

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

**„Untersuchung zur Korrelation zwischen der klinischen
Manifestation der marginalen Parodontitis und der
Expression von Matrixmetalloproteinase 8 und Surfactant
Protein D im Serum“**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Beate Edith Müller, geb. Hornstein

aus Schwabmünchen
2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichtersteller: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. M. Folwaczny

Mitberichterstellerin: Prof. Dr. Mechthild Stöckelhuber

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Christina Ern

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.2020

1. PARODONTITIS – EINE INFektion DES GESAMTEN KÖRPERS	5
2. GRUNDLAGEN	8
2.1. PARODONTITIS:.....	8
<i>FORMEN DER PARODONTITIS.....</i>	<i>10</i>
<i>ENTSTEHUNG DER PARODONTITIS</i>	<i>11</i>
<i>ENTSTEHUNG DES BIOFILMES.....</i>	<i>12</i>
<i>PATHOGENITÄT DER BAKTERIEN.....</i>	<i>13</i>
<i>IMMUNABWEHR GEGEN DIE PARODONTITIS.....</i>	<i>14</i>
<i>BEKANNTE RISIKOFAKTOREN</i>	<i>17</i>
2.2. SURFACTANT PROTEIN D.....	19
2.3. MATRIXMETALLOPROTEINASE 8	21
2.4. ZIELE DER STUDIE	23
3. MATERIALIEN UND METHODEN.....	24
3.1. AUSWAHL DER STUDIENPOPULATION	24
3.2. ELISA ZUR BESTIMMUNG DER KEIME, VON SP-D UND MMP-8	25
3.3. NACHWEIS DER BAKTERIEN	27
3.4. MATRIXMETALLOPROTEINASE 8.....	32
3.5. SURFACTANT PROTEIN D	33
3.6. STATISTISCHE ANALYSE.....	35
4. ERGEBNISSE	36
4.1. ALLGEMEINE EIGENSCHAFTEN DES STUDIENKOLLEKTIVS	36
<i>PARODONTAL PATHOGENE BAKTERIEN UND PA-STADIUM</i>	<i>40</i>
4.2. EXPLORATIVE ANALYSE: SP-D IM SERUM.....	45
4.3. KNOCHENVERLUST UND EXPRESSION VON SP-D IM SERUM.....	47
4.4. EXPLORATIVE ANALYSE: MMP-8 IM SERUM.....	47
4.5. KNOCHENVERLUST UND EXPRESSION VON MMP-8 IM SERUM.....	49
4.6. EXPRESSION VON SP-D IM SERUM UND MMP-8 IM SERUM IN ABHÄNGIGKEIT VON GESCHLECHT, RAUCHVERHALTEN UND ETHNISCHER ABSTAMMUNG.....	49
4.7. EINFLUSS DER PARODONTAL PATHOGENEN BAKTERIEN AUF DIE EXPRESSION VON SP-D IM SERUM UND MMP-8 IM SERUM.....	52
4.8. MULTIVARIATE STATISTISCHE ANALYSEN	55
<i>LINEARE REGRESSION.....</i>	<i>55</i>
<i>SPEARMAN-RHO KORRELATIONSANALYSE</i>	<i>56</i>
5. DISKUSSION	61
5.1. METHODIK.....	61
<i>AUSWAHL DER STUDIENPOPULATION.....</i>	<i>61</i>
<i>ERMITTLUNG DER SP-D UND MMP-8 KONZENTRATIONEN IM SERUM MITTELS ELISA</i>	<i>64</i>
5.2. BEWERTUNG DER ERGEBNISSE.....	65
<i>BEWERTUNG DER ERGEBNISSE FÜR DIE BAKTERIEN</i>	<i>65</i>
<i>BEWERTUNG DER ERGEBNISSE ZU SP-D.....</i>	<i>67</i>
<i>BEWERTUNG DER ERGEBNISSE ZU MMP-8.....</i>	<i>70</i>
6. ZUSAMMENFASSUNG.....	73
7. ANHANG.....	74
DETAILLIERTE DATEN DER KORRELATIONSANALYSE	74
8. LITERATURVERZEICHNIS	78

9. DANKSAGUNGEN	92
10. LEBENSLAUF.....	93
PERSÖNLICHE DATEN	93
SCHULBILDUNG	93
STUDIUM / BERUFLICHE LAUFBAHN	93

1. PARODONTITIS – EINE INFektion DES GESAMTEN KÖRPERS

Die Parodontitis ist eine Infektionskrankheit, die mit einer Entzündung des parodontalen Stützgewebes und Knochenverlust einhergeht. Die Ursache dieser Erkrankungen ist die Ausbreitung von gingivalen Entzündungen in das tiefer gelegene parodontale Gewebe¹. Der „primäre Ursachenkomplex“ der Parodontitis fasst die pathogenen Faktoren des so genannten „Biofilms“ und die entzündliche Reaktion auf diesen durch die Immunabwehr zusammen². Der Biofilm ist sehr komplex aufgebaut und besteht aus Mikroorganismen, die in eine Matrix eingebettet sind. Biofilme heften sich an verschiedene Oberflächen des Körpers an³. Der „sekundäre Ursachenkomplex“ beschreibt lokale Faktoren, die einen Einfluss auf den primären Ursachenkomplex haben wie zum Beispiel Zahnstein, Zahnanatomien, Zahnstellungen oder die Mundatmung².

Die Prävalenz der Parodontitis steigt im hohen Alter erheblich an⁴. Gerade durch die längere Lebenserwartung und den sinkenden Zahnverlust im Alter spielt die Parodontitis eine zentrale Rolle in der heutigen Zahnmedizin und ihre Bedeutung nimmt stetig zu.

Das Auftreten der Parodontitis steht im engen Zusammenhang mit der bakteriellen Mundflora. Insgesamt wurden mehr als 700 verschiedene Bakterienarten in der Mundhöhle nachgewiesen, von denen ungefähr 50% kultiviert werden konnten⁵. Die Mundhöhle ist zwar bei Geburt keimfrei, doch bereits kurze Zeit danach beginnt die Besiedlung der Mundhöhle durch diverse Bakterien⁶. In der normalen Mundflora kommen sechs verschiedene Bakterienstämme vor: Firmicutes (*Streptokokken*, *Veillonellen* usw.), Aktinobakterien (*Aktinomyzeten*), Proteobakterien (*Neisseria*), Bakteroides (*Prevotella*, *Porphyromonas*), Fusobakterien und ein weiterer Stamm (TM7), von dem kein Vertreter kultiviert werden konnte⁵.

Bakterien, die speziell mit dem Auftreten der Parodontitis in Verbindung gebracht werden, sind bei der gesunden Mundflora in sehr geringer Zahl zu finden. Hierzu zählen im Besonderen die Bakterien des sogenannten roten Komplexes⁷: *Porphyromonas gingivalis* (PG), *Tannerella forsythia* (TF) und *Treponema denticola* (TD)⁵. Diese sind stark pathogene Keime. Dennoch ist nicht nur allein das Auftreten eines dieser Vertreter für die Entstehung einer Parodontitis verantwortlich. Vielmehr spielt die individuelle Zusammensetzung der im Biofilm vorkommenden Bakterienarten eine Rolle. Daher ist nicht nur eine (bakterielle) Frühdiagnose der Parodontitis schwierig sondern auch der Einfluss auf den Körper sehr komplex.

Bekannte Risikofaktoren für die Entstehung und Schwere der Parodontitis sind das Rauchen, systemische Krankheiten wie Diabetes mellitus, genetische Faktoren oder Fettleibigkeit⁸. Eine Erkrankung an Parodontitis ist ebenfalls ein Risikofaktor für gravierende (systemische) Erkrankungen. So fanden Forscher heraus, dass das Risiko, an einer kardialen oder renalen Erkrankung zu versterben, bei Patienten mit schwerer Parodontitis um das 3,2-fache gegenüber Patienten mit keiner und nur sehr leichten Parodontitis erhöht ist⁸. Das Auftreten einer durch Diabetes bedingten Nephropathie ist um das 2,0-2,6 - fache bei Parodontitis-

Patienten gegenüber Patienten ohne Parodontitis erhöht⁹. Die Parodontitis ist also keineswegs nur eine lokale zahnmedizinische Erkrankung sondern kann gravierende Effekte auf den ganzen Körper haben.

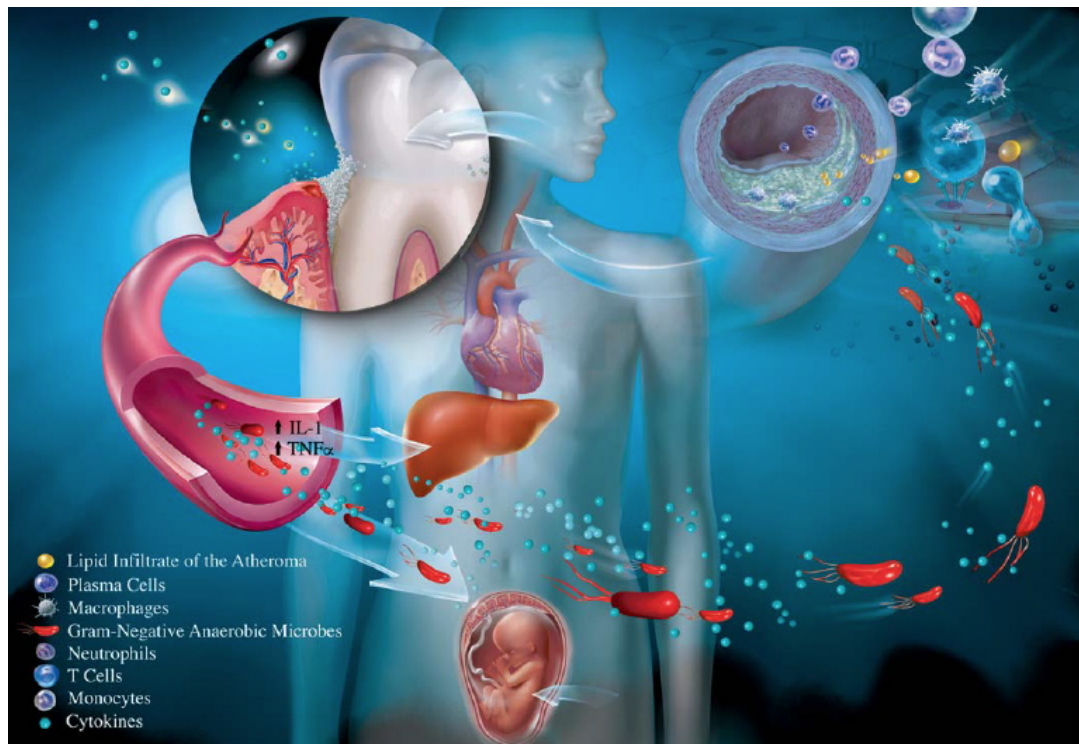


Abbildung 1: Darstellung, wie subgingivale Plaquebakterien oder deren Stoffwechselprodukte periphere Organe des Körpers über die Blutbahn erreichen können und dort zu Entzündungen oder anderen Erkrankungen führen können. Abbildung übernommen aus Referenz¹⁰

Die Auswirkungen der Parodontitis sind nicht auf den subgingivalen Biofilm des Patienten beschränkt, sondern die Bakterien und Endotoxine gelangen in den Blutkreislauf und werden so im gesamten Organismus wirksam. Deshalb ist zu erwarten, dass Biomarker für die Parodontitis sich nicht nur im Speichel sondern auch im Serum des Patienten finden. Die grundsätzliche Wirkungsweise, wie die marginale Parodontitis Krankheiten verursachen bzw. beeinflussen kann, ist in Abb. 1 dargestellt. Die parodontal pathogenen Bakterien des subgingivalen Biofilmes können durch den Kreislauf in den gesamten Organismus gelangen¹¹. Doch nicht nur die Bakterien selbst sondern auch deren Endotoxine können auf diese Weise auf den Körper einwirken¹². Nach dem Zähneputzen oder Zahnbehandlungen wie Extraktionen, Scaling, Sondieren, Entfernen von subgingivalen Fäden und nach endodontischen Behandlungen kann es zu einer so genannten „Bakteriämie“ kommen¹³. Die Bakteriämie bezeichnet das Vorhandensein von Bakterien in der Blutbahn. Dies kann mikrobiologisch nachgewiesen werden¹⁴. Es handelt sich dabei um Bakterien, die normalerweise nur in der Mundhöhle anzutreffen sind. Nach einer Zahnextraktion tritt bei 100% der Patienten eine Bakteriämie auf, nach dem Scaling bei 70% der Untersuchten und nach endodontischer Behandlung bei 20% der Personen¹⁵. Die Ausbreitung der Bakterien in die Blutbahn verläuft sehr schnell. Bereits nach einer Minute werden die Lungen, das Herz und das periphere, kapillare Blutsystem erreicht¹⁵.

Auch kardiovaskuläre Erkrankungen stehen möglicherweise im Zusammenhang mit der Parodontitis. *Gingipaine*, die durch *Porphyromonas gingivalis* (PG) sezerniert werden, können Prothrombin, Faktor 10 und Protein C aktivieren. Dies führt zu einer erhöhten Aggregation der Thrombozyten¹⁵. Bakteriell *Lipopolysaccharid* (LPS) hat einen direkten Effekt auf die Endothelzellen der Blutgefäße. Dies kann eine bestehende Arteriosklerose verstärken. Bei einer Parodontitis ist die Konzentration des „C-reaktiven Proteins (CRP)“ im Blut erhöht¹⁵. Die Menge des CRPs steht in engem Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen. Es wurde beobachtet, dass nach einer Parodontitis-Behandlung der CRP-Wert um 65% innerhalb von drei Monaten gesenkt werden konnte^{10,14,15}. Auch bei der Entstehung der Arteriosklerose können parodontalpathogene Bakterien beteiligt sein. Arteriosklerotische Plaque besteht hauptsächlich aus den Bakterien *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA) und PG¹⁵. In 44% der Fälle wurden auch die parodontal pathogenen Bakterien PG, TF und *Prevotella Intermedia* (PI) gefunden^{16,17}.

Es ist bekannt, dass Diabetes mellitus ein Risikofaktor für das Entstehen einer Parodontitis ist. Neue Studien zeigen jedoch, dass eine Parodontitis auch einen bestehenden Diabetes verstärken oder unter Umständen sogar auslösen kann¹⁸. Somit beeinflussen und verstärken sich diese Erkrankungen gegenseitig. Es wird vermutet, dass ungefähr dreißig Prozent der Diabetiker eine nicht diagnostizierte Parodontitis haben⁸. *Interleukin 1* (IL-1), *Interleukin 6* (IL-6) und *Tumornekrosefaktor alpha* (TNF- α) sind Zytokine, die während einer parodontalen Entzündung ausgeschüttet werden und in den Fett- und Zuckerstoffwechsel eingreifen^{18,19}. Dabei spielt vor allem TNF- α eine Rolle. Dieser ist sowohl bei der Parodontitis als auch bei Diabetes mellitus erhöht und sorgt für Knochenabbau. TNF- α ist ein Antagonist des Insulins und führt somit zu einer erhöhten Insulin-Resistenz des Körpers^{10,19,20}.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine Parodontitis unter Umständen gravierende Einflüsse auf den Körper durch unterschiedliche Mechanismen hat. In dieser Studie wird die Frage untersucht, ob im Umkehrschluss auch verschiedene Entzündungsmarker im Körper auf den Schweregrad der Parodontitis schließen lassen. Von besonderem Interesse wäre die Möglichkeit einer Diagnose durch Blutuntersuchungen. Da bei einer Parodontitis, wie oben beschrieben, Bakterien in die Blutbahn gelangen können, wäre es vorstellbar, dass auch andere Entzündungsfaktoren wie *Matrixmetalloproteinasen*, deren Auftreten bei bestehender Parodontitis im Speichel erhöht ist²¹, auch im Blut häufiger erscheinen. Andere Entzündungsfaktoren sind *Surfactant Proteine*. Eine Studie von Glas *et al.* lieferte erste Hinweise darauf, dass *Surfactant Protein D* (SP-D) bei starker Parodontitis im Blut erhöht ist²².

2. GRUNDLAGEN

2.1. PARODONTITIS:

Die Parodontitis ist eine Infektionskrankheit, die mit dem irreversiblen Abbau des Zahnhalteapparates einhergeht. Es kann zur Lockerung der Zähne bis hin zum Zahnverlust kommen.

Ausgangspunkt ist häufig eine Gingivitis, die durch eine Ansammlung von Plaque entsteht. Die Bakterien der Plaque sind in einer extrazellulären Matrix eingebaut. Diese sind für die körpereigene Immunabwehr schwer zu erreichen. Die mechanische Entfernung der Plaque ist als zentrale therapeutische Maßnahme besonders wichtig¹⁰. Bei bestehendem Biofilm erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass sich sowohl Karies als auch eine Gingivitis oder eine Parodontitis entwickeln.

Die Definition der Parodontitis als Infektionskrankheit ist nicht ganz unproblematisch. Grundsätzlich werden Infektionskrankheiten über die „Koch’schen Postulate“ definiert, die besagen, dass es sich um eine Infektionskrankheit handelt, sobald der Erreger bei Erkrankten anzutreffen ist und isoliert werden kann²³. Außerdem muss es möglich sein, eine Infektion durch Einbringen des Erregers in den Körper auszulösen. Diese Postulate treffen allerdings nicht auf die bekannten parodontal pathogenen Bakterien zu. Deshalb stellte Socransky speziell für die Parodontitis modifizierte Kriterien zur Definition von parodontalen Infektionen auf, welche an die Koch’schen Postulate angelehnt sind²⁴. Die „Assoziation“ besagt, dass der Krankheitserreger an aktiven Stellen häufiger anzutreffen sein muss als an nicht aktiven Stellen. Durch die „Elimination“ der Krankheitserreger muss die Infektionskrankheit gestoppt werden können. Den dritten Punkt stellen die Antikörper dar („host response“), die der Wirt aufgrund des bakteriellen Reizes bildet. Die Krankheitserreger produzieren Virulenzfaktoren (mikro-biologische Moleküle), durch die pathogenetische Effekte der Bakterien erklärt werden können (z.B. Knochendestruktion u.a.). Als vierten Punkt führt Socransky den Begriff „Animal pathogenicity“ auf. Dies besagt, dass durch die Übertragung der pathogenen Bakterien bei Tieren eine Infektion, bzw. eine Parodontitis ausgelöst wird. Den letzten Punkt bezeichnet Socransky als „Mechanism of Pathogenicity“. Dies stellt dann den speziellen Mechanismus der Pathogenität der Bakterien dar^{24,25}.

Die Parodontitis ist eine weit verbreitete Krankheit. Laut der „fünften Deutschen Mundgesundheitsstudie“, die im Jahre 2016 veröffentlicht wurde²⁶, haben Parodontalerkrankungen im Vergleich zur „vierten Deutschen Gesundheitsstudie“ von 2005⁴ deutlich abgenommen. Dennoch weisen noch immer 52% der jüngeren Erwachsenen (35-44-jährige) eine Parodontitis auf.

Die Prävalenz der Parodontitis für jüngere Senioren (65 – 74-jährige), basierend auf den Daten der *fünften deutschen Mundgesundheitsstudie*²⁶, ist in Abb. 2 schematisch dargestellt. Die Zahl der gesunden Senioren ist von 8,0% auf 35,3% gestiegen. Die Prävalenz der moderaten Parodontitis ist leicht zurückgegangen (von 47,9% auf 44,8%), während sich die Fallzahlen der schweren Parodontitis sogar mehr als halbiert haben (von 44,1% auf 19,8%).

Aus der Grafik ist dennoch ersichtlich, dass noch immer 64,6% der jüngeren Senioren an einer behandlungsbedürftigen Parodontitis erkrankt sind²⁶.

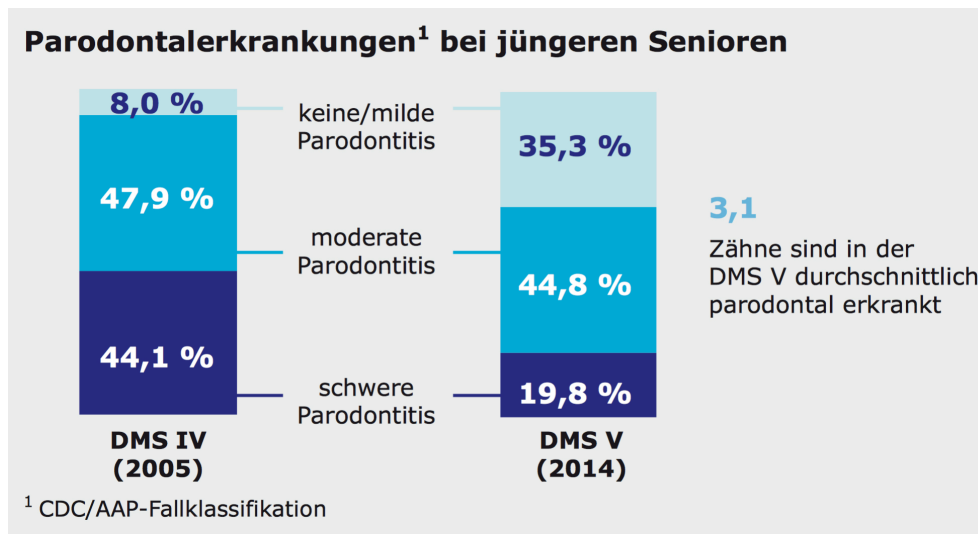


Abbildung 2: Veränderung der Prävalenz von Parodontitis bei Senioren von 2005-2014. Abbildung übernommen aus der fünften deutschen Gesundheitsstudie²⁶

Trotz dieser Verbesserungen erhöht sich aufgrund der demographischen Entwicklung die Notwendigkeit der Diagnose und Behandlung von Parodontitis. Die Prävalenz der Parodontitis wird dadurch steigen. Diese Entwicklung ist in Abbildung 3 zu sehen²⁶.

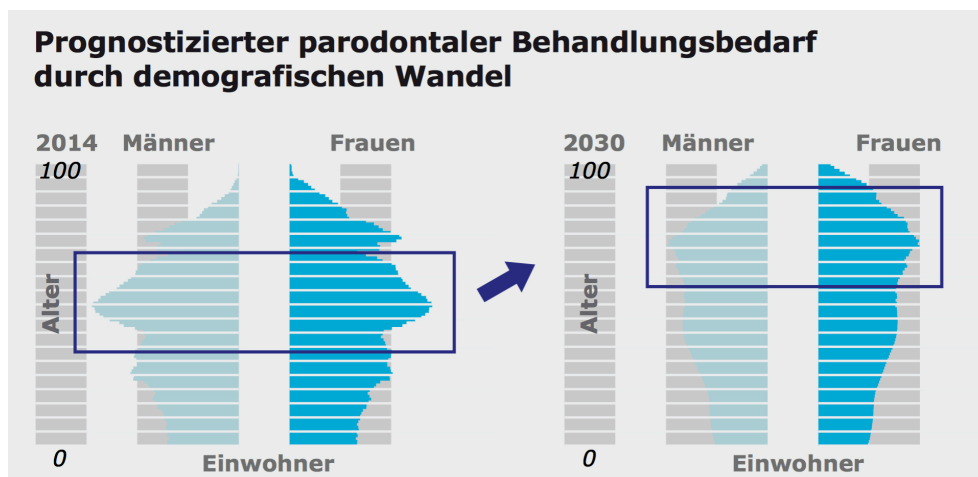


Abbildung 3: Demografische Entwicklung und der daraus resultierende erhöhte parodontale Behandlungsbedarf bis 2030. Abbildung übernommen aus der fünften deutschen Gesundheitsstudie²⁶

Die häufigste Form der Parodontitis ist die **chronischen Parodontitis**²⁷. Über 90% der Parodontalerkrankungen in Europa sind der chronischen Parodontitis zuzuordnen²⁸. Typische Symptome sind Attachmentverlust, gingivale Rezessionen, Abszesse, horizontaler Knochenabbau, Zahnwanderungen, Zahnkippen und Zahnlockerungen². Der typische Verlauf gliedert sich dabei in Phasen der Stagnation und der Progression²⁹.

Zum Auftreten dieser Phasen trägt eine Reihe von Faktoren bei, die in Abb. 4 vergleichend dargestellt werden. Wie man in der vierten Spalte sehen kann, tritt bei der Progression fortschreitender Attachmentverlust ein. Es kommt zum Kollagen- und Knochenabbau. Der Leukozytenwall ist durchbrochen, es kommt zu starken klinischen Entzündungszeichen³⁰. Durch Epithelverlust, welcher durch die Entzündung hervorgerufen wird, entsteht ein Taschenepithel und bildet somit eine schützende Nische für Bakterien. Die protektiven Faktoren des Speichels wie IgA oder Lysozyme können diesen kaum noch entgegenwirken. Die Stagnation ist in der dritten Spalte dargestellt. Bei der Stagnation haben protektive Faktoren des Speichels die Überhand und verhindern somit die Adhärenzfähigkeit der Bakterien. Die Entzündung kann durch den Leukozytenwall gebremst werden. Durch diesen Stillstand besteht die Möglichkeit, Kollagenfasern wiederherzustellen und somit für einen Attachmentaufbau zu sorgen. Auch Knochen kann teilweise wieder aufgebaut werden. Hierbei werden die Begriffe „Reattachment“ und „Neues Attachment“ unterschieden³¹. Der Begriff „re-attachment“ beschreibt die Heilung eines traumatogen geschädigten desmodontalen Attachments bei intakter Zementoberfläche. „Neues Attachment“ bezeichnet die Wiederherstellung des desmodontalen Attachments, auf einer neuen (geheilten) Zementoberfläche³². Wie *Isidor et al.* in ihrer Studie von 1985 an Zähnen von Affen zeigten, entsteht apikal am Zahn neuer Zement. Dieser breitet sich nach koronal aus und führt somit zu einem neuen Attachment³³. Klinisch weisen aktive Taschen (parodontale Taschen während der Progressionsphase) erhöhte Entzündungszeichen wie Blutung, Exsudat und Schwellung auf und sind vermehrt von gram-negativen, anaeroben Mikroorganismen (PG,AA,TF) befallen^{2,34}.

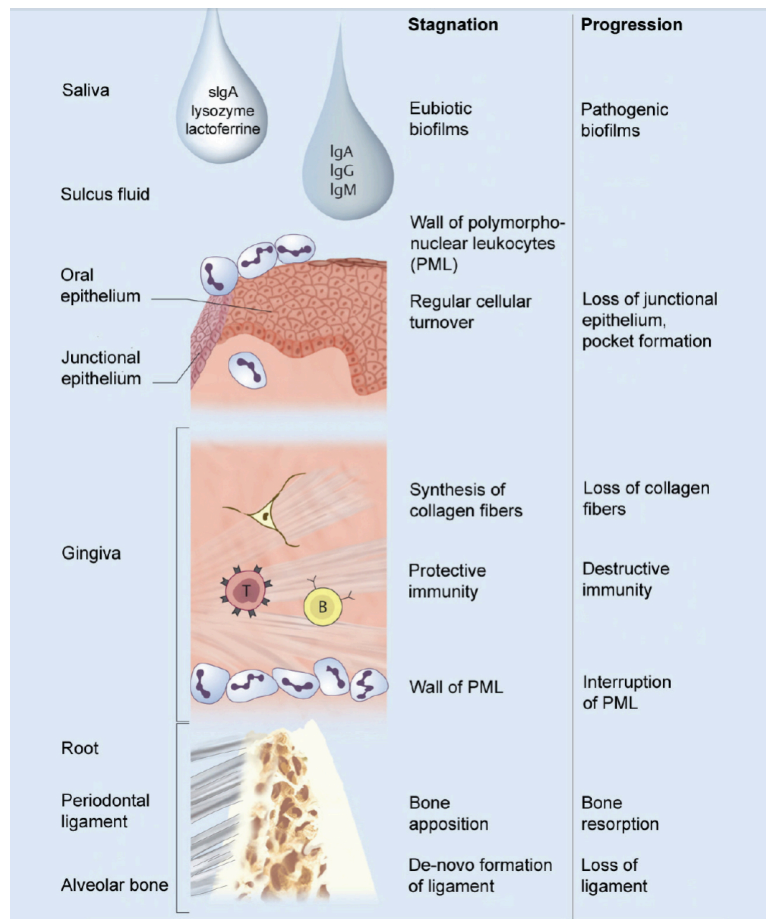


Abbildung 4: Vergleich von Faktoren, die zum Auftreten von Progressionsphasen und Stagnationsphasen beitragen.
Abbildung übernommen aus Referenz³⁰

Die **aggressive Parodontitis** geht mit sehr raschem Attachmentverlust einher³⁵. Die Menge der bestehenden Plaque korreliert hier nicht wie bei der chronischen Parodontitis mit dem Schweregrad der Erkrankung³⁶. Trotz der geringen Menge der Plaque weisen parodontale Taschen sehr hohe Mengen an den pathogenen Bakterien *AA*, *TF*, *PI* und *PG* auf³⁷. Das Bakterium *AA* kann dabei eine Schlüsselrolle spielen³⁸. Er führt auch zu einer erheblichen Gewebedestruktion³⁹. Dabei scheint die bakterielle Besiedlung bei einer aggressiven Parodontitis je nach Geographie oder Ethnie unterschiedlich zu sein³⁹. In Japan zum Beispiel werden *TF*, *C. rectus*, *PG* und *TD* als dominante Keime identifiziert, wobei *AA* zwar auch gefunden wurde, allerdings in geringerer Menge als *PG*⁴⁰.

ENTSTEHUNG DER PARODONTITIS

Die Entstehung der Parodontitis ist ein multifaktorieller Prozess. Nicht allein die Mundhygiene ist hierfür ausschlaggebend. Dies lässt sich sehr anschaulich an einer Studie von *Löe et al.* von 1986 sehen, in der Teearbeiter, die in Sri Lanka leben und keine regelmäßige Mundhygiene betreiben, parodontal untersucht wurden⁴¹. Trotz fehlender Mundhygiene hatten 11% der Probanden überhaupt keine Anzeichen einer Parodontitis.

Dennoch ist Plaque auch ein entscheidender Faktor bei der Entstehung der Parodontitis. Die supragingivale Plaque ist durch einfache Mundhygiene leicht zu entfernen und besteht hauptsächlich aus gram-positiven, fakultativ aeroben Streptokokken. Die subgingivale Plaque hingegen besteht hauptsächlich aus gram-negativen, anaeroben Stäbchen wie Aktinomyzeten, *Fusobakterium nucleatum* (FN), TF, *Tannerella* Stämmen, *Prevotella*-Stämme und Spirochäten^{36,42}. Außerdem findet sich subgingival auch der sehr pathogene Vertreter AA⁴³.

ENTSTEHUNG DES BIOFILMES

Die Bildung des Biofilmes vollzieht sich in vier Phasen: Die Adhärenz, die Verzögerungsphase, die Wachstumsphase und die Gleichgewichtsphase⁴⁴.

In der Phase der Adhärenz bildet sich zunächst das sogenannte „acquired pellicle“. Dies bezeichnet eine Benetzung der Zähne mit Proteinen des Speichels innerhalb kürzester Zeit nach der Zahnreinigung⁴⁵. Im acquired pellicle sind keine Bakterien vorhanden⁴⁵. Jedoch können sich erst durch dieses Pellicle Bakterien an die Zahnoberfläche anlagern^{44,46}. Die Bakterien binden sich mit ihren Pili und Proteinen an spezielle Rezeptoren des acquired pellicle (Adhäsion). Innerhalb der ersten vier Stunden heften sich zunächst gram-positive Streptokokken an (*S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis*)⁴⁷. In den nächsten 12 Stunden kommen durch Koaggregation *Actinomyzeten*, *Prevotellae* und *Veillonellae* hinzu⁴⁸.

In der Verzögerungsphase findet eine Änderung der Genexpression der Bakterien statt, da diese sich von der planktonischen in die sesshafte Phase entwickeln⁴⁴.

In der Wachstumsphase wird die Glykokalix gebildet, die aus Wasser und Exopolysacchariden besteht. Diese dient als Schutzfilm des bakteriellen Komplexes und hält ihn zusammen⁴⁴. Der bakterielle Komplex wächst weiter durch Koaggregation von Bakterien¹⁰. Zunächst vermehren sich die Bakterien lateral. Bei weiterem Voranschreiten wird dieses Wachstum durch vertikales Wachstum abgelöst. Zu Beginn finden sich meist Aerobier. Bei Voranschreiten der Plaquebildung werden diese allerdings immer mehr durch Anaerobier ersetzt⁴².

In der Gleichgewichtsphase verringern Bakterien im Inneren des Biofilmes ihr Wachstum. Es können Kristalle beobachtet werden, die dann mineralisieren⁴⁴.

Durch „quorum sensing“ können diese Bakterien untereinander ihre Aktivitäten koordinieren und Einfluss auf die Genexpressionen nehmen¹⁰. Quorum sensing bezeichnet die Fähigkeit der Bakterien, untereinander durch Signalmoleküle zu kommunizieren. Diese Signalmoleküle (Autoinducer) bewirken eine Regulierung der Genexpression und somit eine Änderung der Funktion⁴⁹. Es werden Funktionen wie Virulenz, Kompetenz, Konjugation, Antibiotikaproduktion, Beweglichkeit, Sporenbildung und Biofilmbildung beeinflusst⁴⁹. Ein Beispiel hierfür sind Efflux-Pumpen, welche Antibiotika ausschleusen^{2,10}.

Die reinigende Wirkung des Speichels und die der Abrasion kann nur supragingival wirken⁵⁰. Die Beseitigung des Biofilmes ist nur noch mechanisch möglich. Dies ist jedoch anhand der schwierigen Lokalisation in der unzugänglichen Tasche nicht möglich. Ab einer Tiefe von 4

mm subgingival werden diese Lokalisationen selbst mit bester Mundhygiene nicht mehr erreicht¹¹.

PATHOGENITÄT DER BAKTERIEN

Socransky *et al.*⁷ teilen die Bakterien, welche mit der Parodontitis in Verbindung gebracht werden, in sechs Komplexe ein (Abb. 5). Je nach Pathogenität erhielten diese unterschiedliche Farben. Die Bakterien der blauen (Aktinomyzeten), gelben (Streptokokken), grünen und violetten Gruppe enthalten die Frühbesiedler^{10,44}. Diese Gruppe stellt auch die Vertreter dar, die bei gesunden Verhältnissen zu beobachten sind⁴⁴. Der orange Komplex hingegen steht in engem Zusammenhang mit dem Auftreten von Gingivitis und Zahnfleischbluten. Der rote Komplex ist hoch pathogen und umfasst die Bakterien, die mit der Parodontitis assoziiert werden (*PG*, *TF*, *TD*)¹⁰.

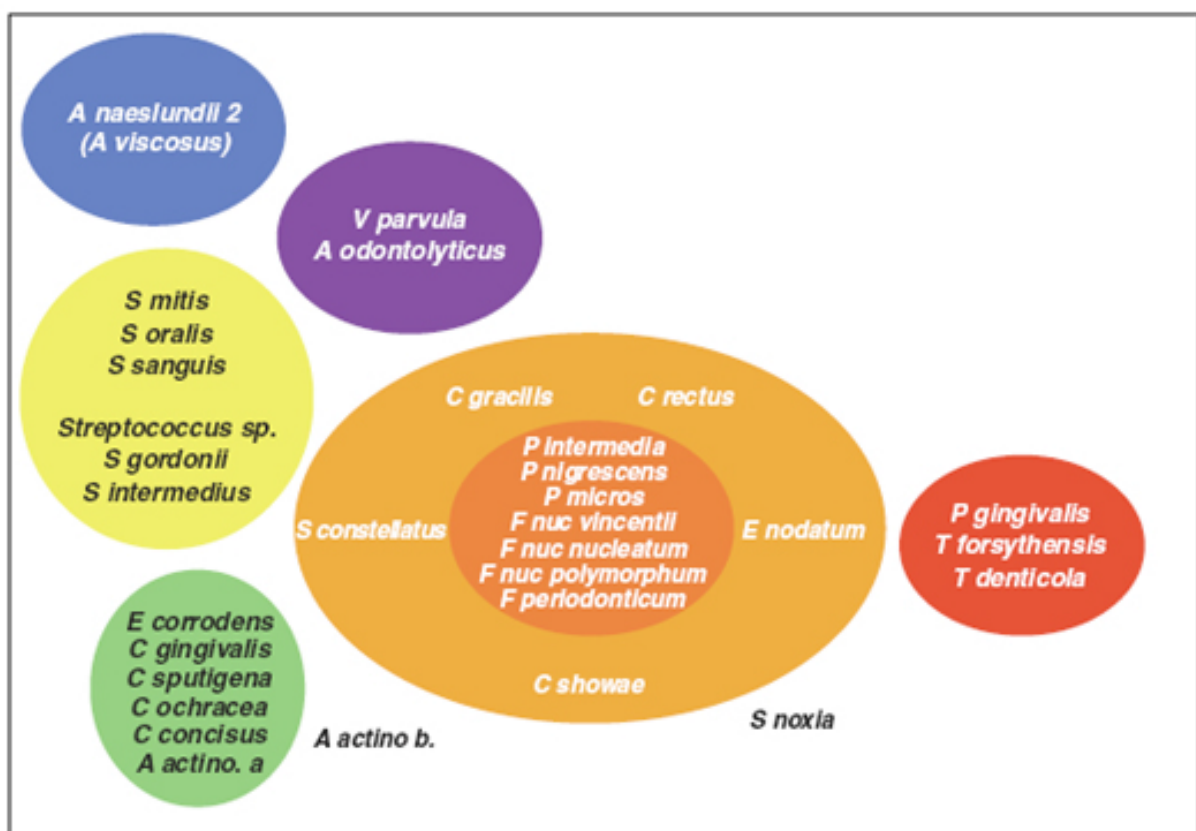


Abbildung 5: Mikrobielle Komplexe nach Socransky *et al.* im subgingivalen Biofilm. Abbildung übernommen aus Referenz ⁷

Das zum orangen Komplex gehörende FN wirkt als wichtige Brücke zwischen den Frühbesiedlern (Streptokokken, Aktinomyzeten) und den späteren Vertretern des roten Komplexes⁵¹.

Der zum roten Komplex gehörende *TD* kann sich an die gingivalen Fibroblasten anlagern und kann mit *FN* und *PG* koaggregieren. Dies stellt einen entscheidenden Faktor für die Biofilmbildung und dessen Pathogenität dar³⁶. *TD* supprimiert unter anderem die Produktion der Beta-Defensine. Beta-Defensine sind antimikrobielle Peptide, die unter anderem durch

Epithelzellen gebildet werden⁵². Sie führen zur Lyse oder zum Zelltod gram-negativer Keime⁵³. Außerdem hemmt *TD* die Proliferation von Fibroblasten⁵⁴.

Es wurde nachgewiesen, dass vier von diesen Bakterien aktiv in das Gewebe des Wirtes eindringen können: *AA*, *PG*, *PI* und *FN*³⁶. Diese Bakterien setzen somit nicht nur die Immunantwort herab, sondern verschaffen sich Zugang zu tieferen Schichten des Gewebes³⁶.

Die Gewebeerstörung wird nicht allein durch die Bakterien selbst sondern vielmehr durch ein Zusammenspiel aus verschiedenen pathogenen Faktoren verursacht. Diese lassen sich in drei Klassen einteilen: die Anti-Wirtsabwehr, die direkte Gewebeschädigung und die indirekte Gewebeschädigung. Durch protektive Faktoren wie die Abkapselung der Bakterien oder ihrer Schleimhülle wird die Wirtsabwehr herabgesetzt. Die direkte Schädigung des Gewebes wird durch Enzyme, Knochenresorption oder zytotoxische Substanzen hervorgerufen. Kollagenasen zum Beispiel können Teile des Gewebes auflösen.

IMMUNABWEHR GEGEN DIE PARODONTITIS

Durch gezielte Abwehrmechanismen versucht der Körper der Biofilm-Bildung und deren schädlichen Stoffwechselprodukten entgegen zu wirken. Wenn die Stoffwechselprodukte die Gewebeschanke passieren, lösen sie dort eine Immunabwehr aus.

Tab.1 zeigt die Bestandteile der Immunantwort, die bei der Parodontitis im Besonderen eine Rolle spielen.

	Unspezifisch	Spezifisch
Zellulär	Phagozyten Makrophagen Granulozyten NK-Zellen	B-Lymphozyten T-Lymphozyten
Humoral	Lysozym Komplementsystem Interferone Zytokine Surfactant Proteine	Antikörper

Tabelle 1: Komponenten der unspezifischen und spezifischen Abwehr, die im Besonderen bei der Parodontitis eine Rolle spielen

Die unspezifische, angeborene Immunreaktion ist ein wichtiger Bestandteil der Abwehrreaktion. Einen Teil dieser Immunreaktion stellen die sogenannten „surfactant“-Proteine dar, von denen es verschiedene gibt (SP-A, P-B und weitere). SP-D treten im Serum und an Schleimhautoberflächen auf und erkennen mikrobielle molekulare Strukturen oder Oberflächenmarker²². Die Kohlenhydratbindungsregion (CRD) des SP-Ds hat eine besondere Bedeutung bei der Immunantwort. Sie kann Glykoproteine und Glykolipide von pathogenen Bakterien binden⁵⁵. CRD reagiert spezifisch auf *Pathogen-associated molecular patterns* der Mikroorganismen wie Zuckerreste, Lipoteichonsäure oder Lipopolysaccharide von gram-negativen Bakterien^{22,55}. SP-A und SP-D vermitteln somit die Opsonierung, Neutralisation und die Agglutination dieser pathogenen Bakterien^{22,55}. Zur Agglutination

kommt es, wenn das CRD an kohlenhydrathaltige Epitope der LPS von gram-negativen Bakterien bindet⁵⁶. Diese agglutinierten Komplexe können leichter durch zähes Sekret des Respirationstraktes ausgeschleust und an der Invasion ins Gewebe gehindert werden⁵⁵. Durch Opsonierung der Mikroorganismen wird die Phagozytose durch Makrophagen und Granulozyten verstärkt^{57,58}. Durch Erhöhung der Zellpermeabilität der Bakterien und durch deren verstärkte Phagozytose wird das bakterielle Wachstum verringert⁵⁷.

Im ersten Stadium der Entwicklung der Parodontitis ist in den ersten Tagen nach der Plaqueakkumulation noch eine klinisch **gesunde Gingiva** zu finden. Die Bakterien des Biofilmes bilden Metabolite (kurze Fettsäuren), die in das Saumepithel eindringen⁵⁹. Dadurch werden die proinflammatorischen Entzündungsmediatoren IL-1, IL-8, TNF α , PGE₂ und MMP sezerniert⁵⁹. Die für die Parodontitis wichtigen Zytokine sind in Tab. 2 aufgeführt. Dazu gehören Interleukine, Tumornekrosefaktoren, Interferone, koloniestimulierende Faktoren und Wachstums-faktoren⁵⁹. Die meisten Zytokine wirken nur lokal. TNF, IL-1 und IL-6 haben auch eine systemische Wirkung⁵⁹. Proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ) stehen im Normalfall im Gleichgewicht mit ihren immunregulierenden Zytokinen (IL-1ra, IL-10, TNF- β)⁵⁹. Bei der Parodontitis werden die proinflammatorischen Zytokine vermehrt sezerniert, da diese von den Bakterien selbst und deren Stoffwechselprodukten induziert werden⁵⁹. Diese Zytokine steigern dann die Sekretion von Prostaglandin E₂ und MMPs⁵⁹. Zytokine werden von Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten, Endothelzellen und Fibroblasten gebildet⁵⁹. IL-1 fördert die Ausschüttung von knochenabbauenden Faktoren wie MMPs und PGE₂, resorbiert selbst den Knochen und aktiviert Lymphozyten^{36,60}. Auch IL-6 fördert die Knochenresorption, indem es die Proliferation der Osteoklasten stimuliert und den Knochenabbau fördert^{61,62}. IL-8 fördert die Chemotaxie von polymorph nukleären Granulozyten (PMNs)⁶³.

Zytokin	Herkunft	Zielzellen	Wirkungen
IL-1	Makrophagen Endothelzellen Epithelzellen	Leukozyten Osteoblasten Osteoklasten	proinflammatorisch pyrogen Stimuliert Sekretion von IL-2 hemmt Knochenbildung fördert Knochenresorption
IL-6	T-Zellen B-Zellen Fibroblasten Endothelzellen	B-Zellen T-Zellen Plasmazellen	proinflammatorisch pyrogen Synthese von Akut-Phase-Proteinen
IL-8	T-Zellen Fibroblasten Endothelzellen	Neutrophile Granulozyten	Chemokin: Aktiviert neutrophile Granulozyten, Umverteilung von Leukozyten in Entzündungsherde
TNF-α	T-Helferzellen Endothelzellen	PMN Makrophagen Osteoklasten	proinflammatorisch Entzündung Zytolyse Aktivierung von Makrophagen Induktion von Apoptose Knochenresorption IL-1-Synthese
TNF-β	T-Zellen Makrophagen	Viele verschiedene	Abbau von Fettdepots Synthese IL-1, IL-6, PGE2
IFN-γ	T-Zellen NK-Zellen	Makrophagen	Proinflammatorisch Steigerung der Zytotoxizität von T-Zellen und NK

Tabelle 2: Auflistung der Herkunft, Zielzellen und Wirkung der für Parodontitis relevanten Zytokine^{59,64}

Durch Mastzellen wird Histamin sezerniert. Dies führt nicht nur zur Erhöhung der Gefäßpermeabilität, sondern veranlasst das Endothel weiter IL-8 auszuschütten. Dies dient dazu, PMNs anzulocken⁵⁹. Durch die erhöhte Gefäßpermeabilität können die Bakterien selbst und auch deren Stoffwechselprodukte in das subepitheliale Bindegewebe eindringen.

Das zweite Stadium ist die **initiale Gingivitis**. Innerhalb von 4-14 Tagen kommt es zur ersten, akuten Entzündungsreaktion⁵⁹. Das Komplementsystem wird durch LPS oder Antigen-Antikörper-Komplexe aktiviert. Dabei unterstützt das Komplementsystem als Teil der angeborenen Immunantwort die unspezifische Abwehr. Sie bewirken die Chemotaxis anderer Immunzellen, Opsonierung der Bakterien und führen zu Poren in der Membran der Bakterien, was zur Lyse dieser führen kann⁶⁵. Neutrophile Granulozyten und Lymphozyten durchdringen das Saumepithel⁶⁶. Die Granulozyten bilden einen Wall gegen die Plaquebakterien (Leukozytenwall)^{67,68}. Neutrophile Granulozyten phagozytieren die pathogenen Bakterien und bauen diese intrazellulär ab. Subepithelial sind Lymphozyteninfiltrate zu finden².

Das dritte Stadium ist die **etablierte Gingivitis**. Das Saumepithel proliferiert nach drei bis vier Wochen nach lateral und es entsteht eine Tasche⁵⁹. Diese wird zunächst noch als „Pseudotasche“ bezeichnet, da diese durch entzündliche Schwellungen entsteht und nicht nach apikal proliferiert⁵⁹. Trotzdem tritt hier schon ein erheblicher Kollagenverlust auf⁵⁹. „Pathogen-associated molecular patterns“ wie Endotoxine und Lipoteichonsäure werden

durch „Toll-like receptors“ der Makrophagen erkannt und dadurch werden Zytokine ausgeschüttet. Dies schädigt allerdings nicht nur die Bakterien sondern auch den Wirt selbst. Interleukine führen zur Ausschüttung von Matrix-Metalloproteinasen. Sowohl Interleukine als auch Matrix-Metalloproteinasen evozieren Knochenresorption. Es werden in diesem Stadium vermehrt Lymphozyten gefunden. Plasmazellen produzieren Antikörper. PMN sezernieren Zytokine, Leukotriene und MMPs⁵⁹. Die etablierte Läsion weist noch gram-positive und gram-negative Bakterien auf und kann über Jahre ohne weitere Progression bestehen. Symptome dieser Form der Gingivitis sind gerötete, geschwollene Gingiva mit erhöhter Blutungsneigung².

Das vierte Stadium stellt die **Parodontitis** dar, in der Attachmentverlust eintritt. Bei der Parodontitis treten subepithelial vorwiegend nur noch anaerobe, gram-negative Bakterien auf. Es entsteht eine echte parodontale Tasche im gingivalen Sulkus². Erst hier erfolgt eine Resorption von Alveolarknochen. Makrophagen sezernieren Mediatoren wie IL-1 und TNF. Diese bauen Bindegewebs- und Knochenmatrix direkt ab und veranlassen Fibroblasten dazu, weiter MMP und PGE₂ zu produzieren. MMP-8 und PGE₂ reduzieren Kollagen direkt⁵⁹. Die Knochenresorption wird vom RANKL/RANK/OPG-System gesteuert. RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand) ist ein membrangebundenes Protein, das allerdings durch Spaltung auch in freier Form vorhanden sein kann⁶⁹. Diese Spaltung wird von Matrixmetalloproteinasen verursacht⁶⁹. RANKL kann an die RANK-Rezeptoren von Präosteoklasten binden⁶⁹. Hierdurch wird die Osteoklastenbildung aktiviert⁶⁸. Für die Knochenresorption heften sich die Osteoklasten durch ihre aktinreichen Podosomen an die Oberfläche des Knochens. Durch Salzsäure und proteolytische Enzyme wie das „Kathepsin K“ wird der Alveolarknochen aufgelöst⁶⁹. Osteoprotegerin (OPG) ist der Inhibitor von RANKL. Dieser bindet an RANKL und verhindert somit dessen Bindung an den Rezeptor RANK⁶⁹. Proinflammatorische Zytokine vermehren die Produktion von RANKL und führen hierdurch zur Knochenresorption⁶⁸.

BEKANNTE RISIKOFAKTOREN

Abgesehen von der bakteriellen Infektion können weitere Faktoren zur Manifestation der Parodontitis beitragen. Zu diesen Faktoren gehören:

- Erbllichkeit
- Rauchen
- Diabetes Typ 1 und Typ 2
- Adipositas
- Osteoporose
- Stress

Rauchen ist der wichtigste und der am besten erforschte Risikofaktor der Parodontitis⁷⁰. Rauchen erhöht das Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken um ein Vielfaches^{70,71}. Nikotin wirkt auf die humorale und zelluläre Immunreaktion⁷². Es reduziert IgG und erhöht das Vorhandensein von Zytokinen im Sulkus^{72,73}. Durch die Hyperkeratinisierung der Gingiva wird die Immunabwehr herabgesetzt². Außerdem verringert sich die Durchblutung durch Vasokonstriktion. Eine bestehende Entzündung kann aufgrund der verminderten Blutung

nicht so schnell erfasst werden. Eine beginnende Parodontitis wird daher erst später erkannt. Die Immunabwehr ist erschwert, da Immunzellen nicht mehr so leicht an das entzündete Gewebe gelangen. Auch durch verminderten Speichelfluss ist die Immunabwehr eingeschränkt. Erst nach 5-10-jähriger Nikotinabstinenz haben diese Patienten das gleiche parodontale Erkrankungsrisiko wie ein Nichtraucher⁷⁴. Dabei konnte bei Rauchern eine Dosisabhängigkeit festgestellt werden. Die Parodontitis ist umso schwerer, je mehr Zigaretten geraucht werden². Auch die Erfolgsrate der Parodontitis-Therapie ist bei Nichtrauchern höher als bei Rauchern⁷⁰.

Bei einem bestehenden **Diabetes** werden die proinflammatorischen Zytokine (IL-1, TNF α), die durch „Advanced glycation end product“ (AGE) vermittelt werden, vermehrt sezerniert^{75,76}. AGEs sind das Produkt nichtenzymischer Glycierung von Lipiden und Proteinen und entfalten eine proinflammatorische Wirkung⁷⁷. AGE tritt nicht nur bei Diabetes, sondern auch bei allgemeinen Entzündungen vermehrt auf⁷⁶. Außerdem ist bei Diabetikern die Regenerationsfähigkeit des Gewebes aufgrund der geringeren Durchblutung durch die Mikroangiopathie geschwächt. Das Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken, ist für einen Diabetiker um das 3-4-fache gegenüber einer gesunden Person erhöht. Es spielt hierbei keine Rolle, ob es sich um einen Diabetes Typ 1 oder Diabetes Typ 2 handelt⁷⁰. Ist der Diabetes allerdings nur unzureichend eingestellt, ist auch eine erfolgreiche Parodontitis-Therapie schwierig⁷⁸. Die Odds Ratio liegt bei 2,2 bei kontrollierten Diabetikern und bei 5,3 für Diabetiker, die trotz Therapie schlechte Blutzuckerwerte aufweisen⁷⁹.

Zu den Hintergrundfaktoren zählen Risikofaktoren, die nicht durch Therapie beeinflusst werden können wie das Alter, das Geschlecht, die Herkunft, der soziale Status und die körpereigene Abwehr. Das Immunsystem ist im vorangeschrittenen **Alter** schwächer, Entzündungen können sich leichter und schneller ausbreiten. Außerdem leiden ältere Patienten oft an systemischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus oder Übergewicht, was den Grad der Parodontitis noch verstärken kann. Auch die Ethnie kann eine Rolle bei der Parodontitis spielen. Die Bevölkerung in Asien und Afrika hat im Schnitt ein höheres Parodontitis-Risiko als Europäer und Amerikaner⁸⁰. Afroamerikaner haben sogar ein dreifach höheres Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken als Kaukasier⁸¹. Es wurde gezeigt, dass die Populationen aus Asien und Afrika eine höhere orale Besiedlung mit den parodontalpathogenen Keimen *AA*, *PI*, und *PG* aufweisen³⁹. Dabei spielen hier natürlich auch die unterschiedliche Mundhygiene, Traditionen und Kulturen eine entscheidende Rolle. Der **soziale Status** stellt einen weiteren wichtigen Einflussfaktor für die Parodontitis dar.⁸² *Borrell et al.* führten hierzu eine sehr interessante Studie durch, die nicht nur den sozialen Status betrachtet sondern diesen auch mit der genetische Abstammung in Zusammenhang bringt⁸². Dabei wurden die Faktoren Einkommen, genetische Abstammung (Kaukasier, Afroamerikaner, Hispanics), Alter, Geschlecht, Bildung, Versicherungsstatus, Dauer seit letztem Zahnarztbesuch, Rauchen und Diabetes betrachtet. Die höchste Prävalenz der Parodontitis zeigt sich in der Personengruppe, welche männlich ist, keine Krankenversicherung besitzt, deren letzter Zahnarztbesuch länger als sechs Monate zurück liegt, raucht und an Diabetes erkrankt ist. Werden alle Faktoren zusammen betrachtet, fällt auf, dass Afroamerikaner die höchste Prävalenz an Parodontitis haben. Werden lediglich die Faktoren Einkommen und Bildung betrachtet, ist die Parodontitis-Häufigkeit bei guter Bildung und hohem Einkommen am geringsten, ungeachtet der Ethnie. Interessanterweise ist bei Betrachtung des Faktors Ethnie bei Afroamerikanern die Parodontitis-Häufigkeit mit

niedrigem Einkommen geringer als bei Afroamerikanern mit hohem Einkommen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass Afroamerikaner mit hohem Einkommen einem erhöhten Stress-Level ausgesetzt sind, welcher eventuell durch rassistische Umstände erklärt werden kann⁸².

Das **Geschlecht** scheint auch eine Rolle bei der Parodontitis zu spielen. Männer zeigen ein erhöhtes Risiko für eine Parodontitis im Vergleich zu Frauen⁸³. Auch bei einer bestehenden Parodontitis sind Attachmentverlust und Knochenabbau bei Männern gegenüber Frauen erhöht⁸³. Hierbei spielen möglicherweise Hormone eine wichtige Rolle. Östrogene haben einen antiinflammatorischen Effekt⁸⁴. Des Weiteren wird diskutiert, dass Männer ein geringeres Gesundheitsbewusstsein haben könnten⁷⁵.

Auch **körpereigene Abwehrmechanismen** können das Ausmaß und die Progression der Parodontitis beeinflussen. Abweichungen der normalen Zellzahl wie die Neutropenie, Störungen der Diapedese wie bei dem „LAD-Syndrom“ oder Funktionsstörungen bezüglich der Chemotaxis der Granulozyten gehören hierzu⁶⁶.

Der Risikoindikator **Stress** ist derzeit noch nicht ausreichend durch Studien belegt. Allerdings wird vermutet, dass durch vorhandenen Stress vermehrt Interleukin 6 ausgeschüttet wird. Menschen, die unter hohem Stress leiden, haben eine vierfach höhere IL-6-Konzentration als die Kontrollgruppe. Hierbei wurden Probanden über sechs Jahre untersucht, die sich um einen Angehörigen mit Demenz kümmerten gegenüber Probanden, die diese Verpflichtung nicht hatten⁸⁵. IL-6 ist ein wichtiger Mediator für Entzündung und Gewebeverlust bei der Parodontitis. Es ist allerdings auch möglich, dass Personen, die unter hohem Stress leiden, schlichtweg ihre Mundhygiene vernachlässigen oder vergessen⁷⁰.

Adipositas ist ein Risikoindikator für eine Parodontitis. In einer Studie, in der 241 Japaner auf den Zusammenhang zwischen Gewicht und Parodontitis untersucht wurden, konnte gezeigt werden, dass dieser Bezug signifikant ist. Das relative Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken, war demnach für Übergewichtige um das 3,4-fache erhöht, während das Risiko für Adipöse bereits um das 8,6-fache gegenüber dem eines Normalgewichtigen lag⁸⁶. 2003 wurde eine weitere Studie durchgeführt, die 13.665 Fälle untersuchte und dabei besonderes Augenmerk auf das Alter der Patienten legte. Dabei wurde besonders in der jungen Altersgruppe (18-34 Jahre) ein signifikanter Unterschied mit einem Quotenverhältnis von 2,27 beobachtet. In der mittleren (35-59 Jahre) und älteren Gruppe (60-90) war dieser Unterschied mit einem Quotenverhältnis von 1,0 für Übergewichtige und 1,76 für Adipöse weitaus weniger entscheidend⁸⁷.

2.2. SURFACTANT PROTEIN D

Surfactant Proteine gehören zur Familie der Kollektine und stellen einen Teil der angeborenen Immunantwort dar. Es gibt vier bekannte Surfactant Proteine: A,B,C,D⁸⁸. Kürzlich wurde noch ein Surfactant Protein G gefunden, dessen Eigenschaften denen der Surfactant Proteine B (SP-B) und Surfactant Proteine C (SP-C) ähneln⁸⁹. Surfactant Protein A (SP-A) und Surfactant Protein D (SP-D) sind sich sehr ähnlich.

Die Familie der Kollektine stellt eine Untergruppe der C-Typ Lektine dar, und gehört somit zur angeborenen Immunabwehr. Surfactant Proteine werden in den Typ-2 Zellen der Pneumozyten der Lunge und in den Clarazellen des Bronchialsystems gebildet⁸⁹.

Kollektine allgemein bestehen aus vier Untereinheiten: Ein zysteinreiches N-terminales Ende, eine kollagenähnliche Region (collagen-like domain), eine alpha-helikal gedrehte Halsregion (alpha-helical neck domain) und eine Kohlenhydratbindungsregion (carbohydrate recognition domain: CRD)⁵⁵. Die CRD besteht aus ungefähr 120 Aminosäuren, die durch zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden sind und sich am C-terminalen Ende des Proteins befindet⁹⁰. Abb. 6 zeigt den schematischen Aufbau des Surfactant Proteins A (SP-A) und von SP-D. SP-A besteht aus sechs Trimeren, SP-D besteht aus vier Trimeren⁹¹.

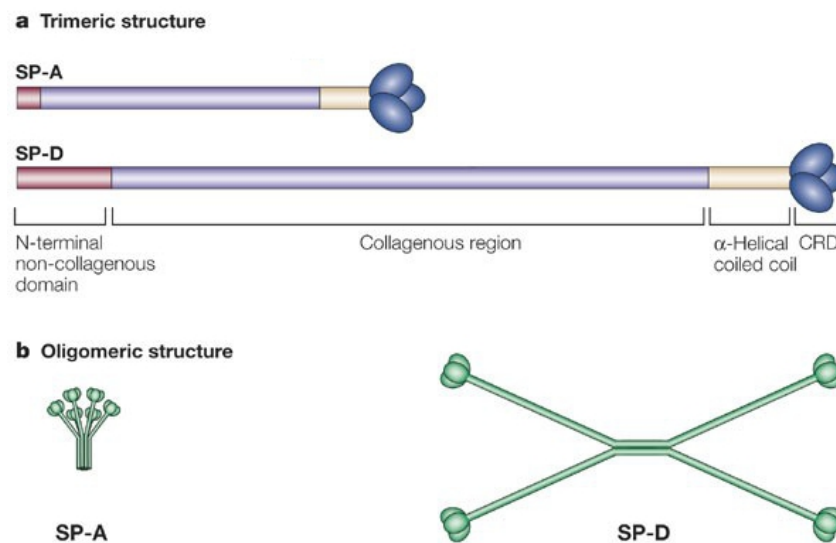


Abbildung 6: Aufbau der Surfactant Proteine. Abbildung übernommen aus Referenz⁹¹

SP-A ist weitgehend nur in der Lunge anzutreffen und verhindert durch Verringerung der Oberflächenspannung ein Kollabieren der Lungen⁸⁹. SP-D befindet sich auch im Blutserum, auf Schleimhautoberflächen des Verdauungstraktes, in den Tränendrüsen und im parodontalem Gewebe³¹. Die Konzentration des SP-D erhöht sich bei Infektionen der Lunge wie bei der Pneumonie oder Asthma⁹³. Durch Infektionen wie Masern oder Tuberkulose und durch Sklerose wird die Konzentration von SP-D im Serum erhöht²². Eine erhöhte Expression von SP-D im Blutserum kann daher ein Frühstadium einer Lungenerkrankung oder einer Erkrankung mit pulmonaler Beteiligung aufzeigen⁹³. Douda et al. legten in ihrer Studie von 2011 in vivo mit Mäusen dar, dass SP-D erheblich dazu beiträgt, dass „neutrophil extracellular traps“ (NET: Netze aus weißen Blutkörperchen) Bakterien einfangen können⁹⁴. Therapeutisch verwendet man SP-D heute als Therapie gegen zystische Fibrose, neonatale Lungenerkrankung und raucherbedingte Emphyse⁹³.

Die Konzentration von SP-D im Serum konnte bereits mit dem Auftreten einer chronischen Parodontitis in Zusammenhang gebracht werden^{22,93}.

2.3. MATRIXMETALLOPROTEINASE 8

Metalloproteinasen (MMPs) stellen eine Gruppe von 26 verschiedenen Endopeptidasen (Enzymen) dar, die bei der Wundheilung, der normalen Geweberegeneration und beim Gewebeumbau eine Rolle spielen⁹⁵. Der Umbau erfolgt über den Abbau und die Beseitigung der extrazellulären Matrix⁹⁶. MMPs werden durch Hormone, Zytokine, Wachstumsfaktoren, deren Inhibitoren (TIMPs: Tissue Inhibitors of metalloproteinases) und Zell-zu-Zell-Kontakte reguliert⁹⁶. Auch bei den ersten Schritten der Apoptose sind MMPs entscheidend beteiligt⁹⁷. Da sie auch bei der Pathogenität des Karzinoms involviert sind, verspricht sich die Forschung Therapieerfolg, wenn gezielt gegen MMPs behandelt wird⁹⁸. Zellen wie Fibroblasten, Osteoblasten, endotheliale Zellen, Makrophagen, neutrophile Granulozyten und Lymphozyten sezernieren diese Enzyme⁹⁸. MMPs werden als so genannte „Zymogene“ (Proform) sezerniert. Aktive MMPs werden im Unterschied zu inaktiven MMPs mit aMMP bezeichnet. aMMPs reagieren im Gegensatz zu inaktiven MMPs mit Antikörpern, was ihren Nachweis stark vereinfacht.

MMPs werden in Kollagenasen, Gelatinasen, Stromelysine und Matrilysine eingeteilt⁹⁸. Diese befinden sich alle extrazellulär. Des Weiteren gibt es noch membrangebundene MMPs, die in die Klasse der „MT-MMPs“ fallen⁹⁸. Abb. 7 zeigt den schematischen Aufbau von Metalloproteinasen. Metalloproteinasen besitzen ein Propeptid (80 Aminosäuren), welches zur Aktivierung des Enzymes abgespalten wird. Ferner besteht eine katalytische Domäne (catalytic domain; 170 Aminosäuren) mit der aktiven Seite und dem katalytischen Zink. Das Zink ist hierbei entscheidend bei der Aktivierung des Enzymes beteiligt. Das Zystein des Propeptides bindet an das Zink-Ion der katalytischen Domäne. Somit kann das Wassermolekül, das für die Katalyse notwendig wäre, nicht an das Zink-Ion binden⁹⁶. Das Enzym bleibt inaktiv. MMPs werden schrittweise aktiviert. Es wird zunächst nur ein Teil des Propeptides abgespalten. Bereits aktivierte MMPs spalten dann den Rest des Propeptides ab und führen somit zur Aktivierung der Metalloproteinase⁹⁶. Das C-terminale Ende bildet die hämopexin-ähnliche Domäne (hemopexin-like-domain, 200 Aminosäuren)^{96,99}. Bei Kollagenasen ist diese Region für die Spaltung des Kollagens verantwortlich⁹⁶. Gelatinasen besitzen noch drei Sorten von Fibronektin, welches für die Substrat-Erkennung und die Reaktion mit TIMPs verantwortlich ist⁹⁹. Drei Kalzium-Ionen stabilisieren die Struktur des Enzyms⁹⁶. Das Substrat bindet an das so genannte „S1'-Pocket“, welches sich auf der rechten Seite des Zink-Ions befindet⁹⁶.

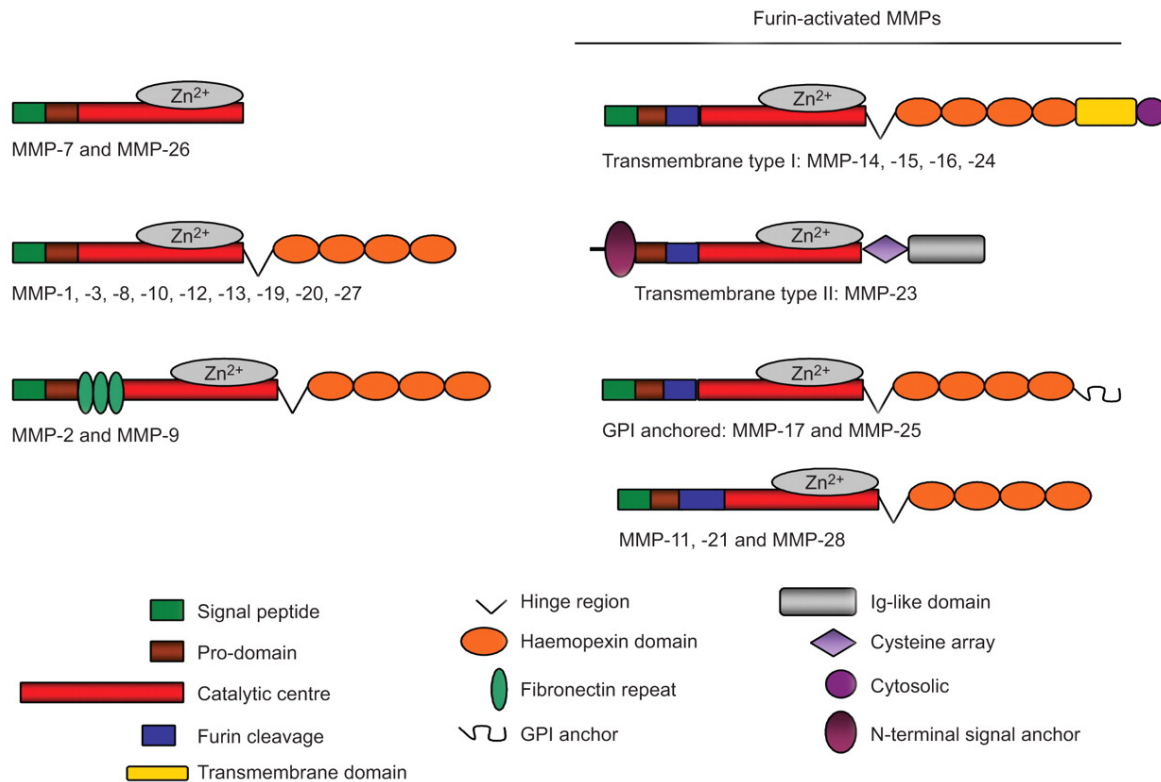


Abbildung 7: Aufbau von Metalloproteinasen. Abbildung übernommen aus Referenz¹⁰⁰

MMPs erfüllen je nach Subtyp diverse Aufgaben. So aktiviert MMP-13 zum Beispiel Osteoklasten, während die Typen MMP-1, MMP-2 und MMP-9 einen antiinflammatorischen Effekt besitzen. Verschiedene MMPs können durchaus zu entgegengesetzten Auswirkungen führen. Während MMP-3 und MMP-9 protektiv gegen arteriosklerotische Plaque wirken, weist MMP-12 eine destabilisierende Wirkung auf und unterstützt die Läsionen der Innenwände von Blutgefäßen¹⁰¹. MMP-1, MMP-8, MMP-13 und MMP-18 gehören zu den Kollagenasen. Das hier untersuchte MMP-8 ist eine neutrophile Kollagenase (Kollagenase 1,2 und 3) und spaltet das Kollagen in $\frac{3}{4}$ und $\frac{1}{4}$ Bruchstücke¹⁰². Zunächst liegt das MMP in nicht aktiver Form in den neutrophilen Granulozyten vor. Wenn das Enzym bei einer Entzündung aktiviert wird, kann es somit Kollagenfasern spalten und den Weg für Immunzellen zu den Bakterien ebnen¹⁰³. Allerdings tritt hier dann auch ein Gewebeverlust auf, der als negativen Nebeneffekt der Immunabwehr den Attachmentverlust des Zahnhalteapparates zur Folge hat.

Metalloproteinasen treten in sehr geringer Konzentration auf. Physiologisch ändert sich dies erst bei Knochenumbau, Wundheilung, Entzündungen und Apoptose⁹⁸. Das Ungleichgewicht zwischen MMP-8 und den intrinsischen Antagonisten (TIPMs) kann zu pathologischen Erkrankungen wie Arthritis, Rheuma, Multiple Sklerose und weiteren führen^{96,98}.

2.4. ZIELE DER STUDIE

Ziel dieser Studie ist die Prüfung der Eignung der Expression der beiden Biomarker SP-D und MMP-8 im Serum von Patienten mit chronischer Parodontitis als Diagnoseparameter zur Differenzierung der Parodontitisstadien. Es soll untersucht werden, ob ein signifikanter Unterschied der Konzentration der beiden Biomarker im Serum bei Patienten mit unterschiedlich schwerer Parodontitis gemessen anzutreffen ist. Es soll außerdem untersucht werden, welchen Einfluss relevante Parameter wie Alter, Geschlecht, ethnische Abstammung, Knochenverlust, Zahnanzahl und das Rauchen auf die Expression der beiden Biomarker SP-D und MMP-8 im Serum haben. Des Weiteren soll analysiert werden, ob das Vorkommen der parodontal pathogenen Bakterien AA, PG, FN, TF, Parvimonas micra (PM), TD und PI in den parodontalen Taschen mit der Expression der beiden Biomarkern im Serum korreliert ist.

3. MATERIALIEN UND METHODEN

3.1. AUSWAHL DER STUDIENPOPULATION

Bei dem Patientenkollektiv handelt es sich um 162 Patienten der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilian-Universität München. Die Studie entsprach den ethischen Richtlinien der Helsinki-Deklaration und wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität positiv begutachtet (No.025-11).

Vor der Aufnahme in die Studie musste jeder Patient schriftlich sein Einverständnis zur Teilnahme an der Studie erklären.

Bei der klinischen Untersuchung wurden mit einer Parodontalsonde (Hu-Friedy, Chicago, USA) zunächst die Taschentiefen an sechs Stellen jedes Zahns erfasst (jeweils auf der bukkalen Seite mesial, medial, distal und auf der palatinalen/lingualen Seite mesial, medial und distal). Dabei wurde auch die Blutung bei Sondierung (BOP= Bleeding on Probing) erhoben.

Mit einer Nabers-Sonde wurden die Furkationen der Prämolaren und Molaren sondiert. Der Furkationsbefall wurde nach *Hamp et al. (1975)* klassifiziert⁶⁷:

- Grad 1: Furkation ist bis 1-3 mm sondierbar
- Grad 2: Furkation ist mehr als 3 mm sondierbar aber nicht durchgängig
- Grad 3 Durchgängigkeit der Furkation

Die Zahnlockerung wurde nach folgenden Kriterien (Hellwig, E.)festgehalten².

- Grad 0: Keine erhöhte Zahnbeweglichkeit
- Grad 1: Erhöht, bis 1 mm
- Grad 2: Erhöht, über 1 mm
- Grad 3: Beweglich auf Lippen- und Zungendruck

Die radiologische Untersuchung der Patienten wurde mit Hilfe eines Orthopantomogramms (OPG) durchgeführt. Der prozentuelle, horizontale Abbau des Alveolarknochens wurde mit Hilfe des Limbus alveolaris (Verlauf des Knochenrandes) berechnet. Dieser liegt ca. 1mm apikal der Schmelz-Zement-Grenze, wenn kein Knochenabbau stattgefunden hat. Man misst zunächst die Länge zwischen Schmelz-Zement-Grenze und der Wurzelspitze. Diese wird dann mit der Länge zwischen Limbus alveolaris und Wurzelspitze verglichen.

Ein mikrobiologischer Abstrich wurde mit einer sterilen Papierspitze („Absorbent Paper Points“ der Firma VDW GmbH, München, Deutschland, ISO 40) aus der tiefsten Tasche eines jeden Quadranten entnommen. Die Proben wurden in einer Kühlbox aufbewahrt. Anschließend wurde dem Patienten Blut entnommen. Es handelte sich insgesamt um zwei EDTA-Röhrchen (*Sarstedt*, Nürnberg, Deutschland) für Plasma und zwei Röhrchen (*Sarstedt*) für Serum. Nach der Blutabnahme wurden diese Probengefäße sofort in einer

Kühlbox aufbewahrt. Die EDTA- und Serum-Röhrchen wurden bei 3000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert (Allegra TM 25R Centrifuge, *Beckman Coulter*, Brea, USA), so dass der Überstand abgenommen werden konnte. Die EDTA-Röhrchen wurden auf drei Cryo-Röhrchen (*Greiner Bio-one*, Frieckenhausen, Deutschland), die Serum-Röhrchen auf zwei Cryo-Röhrchen (*Greiner Bio-one*) aufgeteilt und dann bei -20 °C eingelagert. Für längere Zeiträume wurden die Proben bei -80 °C gelagert.

Die Entnahmen der Blutproben erfolgten von April 2011 bis September 2012. Von 162 Patienten, die sich für eine Parodontitis-Therapie in der *Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians Universität München* vorgestellt haben, wurden folgende Parameter erhoben bzw. gemessen:

- Geschlecht, ethnische Abstammung
- Rauchen
- Alter des Patienten, Anzahl der vorhandene Zähne
- Knochenverlust, Parodontitisstadium
- Die parodontal pathogenen Bakterien: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA), *Porphyromonas gingivalis* (PG), *Fusobacterium nucleatum* (FN), *Prevotella intermedia* (PI), *Tannerella forsythia* (TF), *Parvimonas micra* (PM), *Treponema denticola* (TD)
- Die Biomarker: Surfactant Protein D (SP-D) im Serum, Matrixmetalloproteinase 8 (MMP-8) im Serum

3.2. ELISA ZUR BESTIMMUNG DER KEIME, VON SP-D UND MMP-8

Zur Durchführung des ELISA gibt es unterschiedliche Methoden: der „direkte ELISA“, der „indirekte ELISA“, der „Sandwich-ELISA“ und der „Konkurrenz-ELISA“¹⁰⁴. In dieser Studie wurden mittels Sandwich-ELISA die bakterielle DNA, die Konzentration des SP-D und die Konzentration des MMP-8 des Serums der untersuchten Patienten nachgewiesen.

Generell laufen die ELISA wie folgt ab: Die zu untersuchenden Proben werden in eine Mikrotiterplatte („solid phase“) gegeben, welche bereits je nach ELISA mit den entsprechenden Antikörpern oder Antigenen benetzt ist. Der Begriff „Adsorption“ beschreibt dann, wie die zu untersuchende Probe im verdünnten Puffer hinzugegeben wird. Enthält die Probe die spezifischen Antikörper/Antigene, binden diese während der Inkubation an die solid phase. Durch Waschen werden dann alle nicht gebundenen Teile entfernt. Daraufhin werden Enzyme hinzugegeben, welche entweder nur das Enzym an sich darstellen oder als „enzyme conjugate“ irreversibel an ein Protein gekoppelt sind. Nachdem diese Enzyme an die Antikörper/Antigene gebunden haben, werden sie durch ein beigefügtes Substrat umgesetzt. Dies führt zu einer Färbereaktion der Proben. Danach wird diese Reaktion durch ein Konzentrat gestoppt und ausgewertet. Die Auswertung erfolgt durch eine Extinktionsmessung mit Hilfe eines Spektrophotometers.

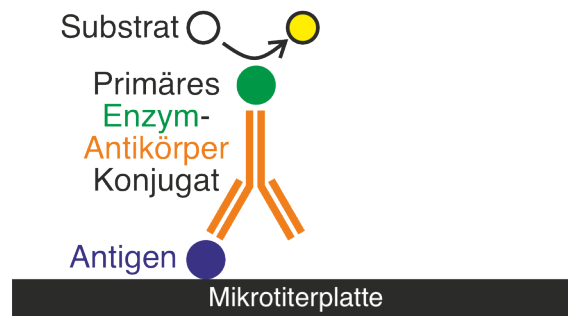


Abbildung 8: Schematische Darstellung des direkten ELISA.

Wie in Abb. 8 dargestellt, werden beim „**direkten ELISA**“ die Antigene direkt auf die Mikrotiterplatte gebracht (blauer Kreis). Nach der Inkubation werden die überschüssigen Antigene durch „Waschen“ der Kavitäten entfernt. Es entsteht eine benetzte Mikrotiterplatte („coated solid phase“). Daraufhin werden Antikörper, welche mit einem Enzym gekoppelt sind (gelbes Y + grüner Kreis), hinzugefügt. Dieses Konjugat bindet an die Antigene auf der solid phase. Nach der Inkubation erfolgt ein weiteres „Waschen“, um nun die überschüssigen Antikörper zu beseitigen. Jetzt wird ein Substrat hinzugegeben, das spezifisch durch das Enzym umgesetzt wird. Durch dieses Reaktionsprodukt kommt es zu einer Färbereaktion, anhand derer die Konzentration der Antigen-Antikörper-Agglutinationen bestimmt werden kann. Die Reaktion wird gestoppt und die Färbereaktion anhand eines Spektrophometers gemessen¹⁰⁴.

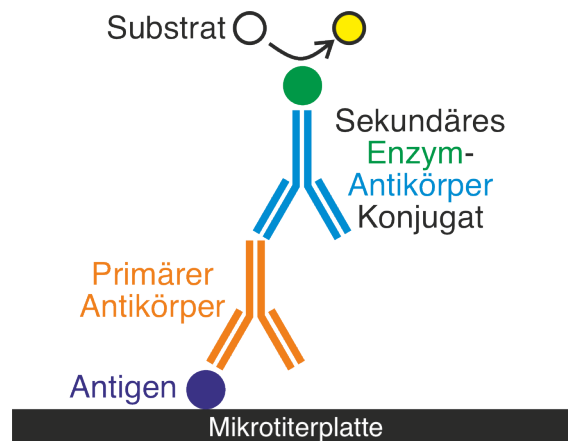


Abbildung 9: Schematische Darstellung des indirekten ELISA.

Abb. 9 zeigt die schematische Darstellung des „**indirekten ELISA**“. Zunächst wird wie beim direkten ELISA das Antigen (blauer Kreis) in die Mikrotiterplatte gebracht und inkubiert. Nach dem Waschen fügt man dann allerdings nur Antikörper ohne ein gebundenes Enzym

(Oranges Y) hinzu. Nach Inkubation und Waschen werden antigenspezifische Sekundärantikörper mit Enzymen hinzugegeben (blaues Y mit grünen Kreisen), die in einem Puffer verdünnt wurden. Es folgen wie beim direkten ELISA wieder das Substrat und die Stopp-Lösung¹⁰⁴.

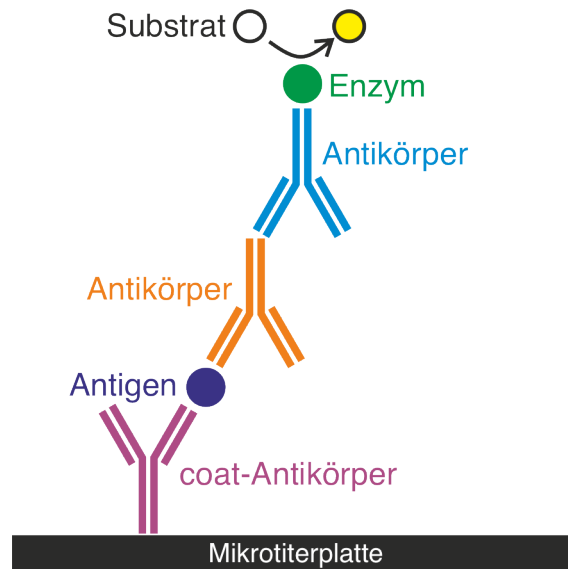


Abbildung 10: Schematische Darstellung des indirekten Sandwich-ELISA.

Beim „**Sandwich-ELISA**“ kann wieder zwischen „direkt“ und „indirekt“ unterschieden werden. Abb. 10 stellt den indirekten Sandwich-ELISA dar. Es werden drei Antikörper verwendet. Der erste bindet an den Boden der Mikrotiterplatte (lila Y). Das Antigen (blauer Kreis) wird hinzugegeben und bindet an diesen Antikörper während der Inkubation. Durch Waschen werden alle ungebundenen Anteile entfernt. Danach wird der zweite Antikörper (gelbes Y) hinzugegeben. Am letzten Antikörper (blaues Y) ist ein Enzym gebunden. Durch Zugabe eines Substrates ändert sich die Farbe, da dieses spezifisch von dem gebundenen Enzym umgesetzt wird.

Beim „kompetitiven Immunassay“ wird anstelle des zweiten Antikörpers ein markiertes Kompetitor-Antigen verwendet. Dieser konkurriert um den Bindungsplatz des Antikörpers. Eine starke Färbereaktion spricht hierbei für eine niedrige Konzentration.

3.3. NACHWEIS DER BAKTERIEN

Die zur Probeentnahme verwendeten Papierspitzen wurden bis zur labortechnischen Weiterverarbeitung und Auswertung bei einer Temperatur von -80°C eingelagert. Pro Mikrotiterplatten können mittels ELISA Proben von 32 Personen ausgewertet werden. Es wurden die Bakterien *PG*, *TF* und *TD* aus dem roten Komplex, *FN*, *PM* und *PI* aus dem orangenen Komplex und *AA*, der keinem Komplex zugeordnet ist, untersucht⁷.

Der Nachweis der Bakterien erfolgte in drei Schritten:

1. Isolation der DNA
2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Vervielfältigung der DNA
3. ELISA zur Identifikation der DNA

Der erste Schritt, die Isolation der DNA der Bakterien, erfolgte mittels des vollautomatischen „MagNaPure^{LC} DNA Isolation Kit 3 (Bacteria, Fungi)“ der Firma „Roche, Mannheim, Deutschland“ nach dem folgenden Protokoll des Herstellers:

1. Lyse durch Zugabe von 169 µl bacteria lysis buffer und 26 µl Proteinase K pro Probe
2. Vorisolation durch Erhitzen auf 65°C für zehn Minuten im Schüttelwasserbad Haake SWB25 (*Thermo Electron Corporation*, Waltham, USA)
3. Erhitzen auf 95°C für zehn Minuten im Wasserbad (*Thermo Electron Corporation*, Waltham, USA)
4. Zentrifugieren der Proben für eine Minute bei 10000 U/min in der Allegra TM 25R Centrifuge (*Beckman Coulter*, Brea, USA)
5. Pipettieren von jeweils 100 µl der Proben
6. Vorbereitung des MagNaPure^{LC} laut Anleitung
7. Starten der DNA-Isolierung durch das MagNaPure^{LC} System
8. Nach Beendigung der DNA-Isolation wurden die Proben sofort wieder eingefroren. Die isolierte DNA wurde bei -20°C gelagert.

Im zweiten Schritt wurde die Vervielfältigung der DNA mittels PCR, wurde mit dem Testsystem „ParidentTM“ („Amplex Diagnostics, Gars, Deutschland“) in Verbindung mit dem Thermal Cycler „Thermal Cycle Bio-Rad“ (Bio-Rad, Hercules, USA) Gerät durchgeführt. Abb. 11 zeigt den „Thermal Cycle Bio-Rad“, mit dem die PCR dieser Studie durchgeführt wurde



Abbildung 11: "Thermocycler" der Firma "BioRad" für die PCR

Bei der PCR wird durch Zugabe des speziellen Primers gezielt der für die nachzuweisenden Bakterien spezifische Teil der DNA amplifiziert. Zur Vorbereitung der PCR werden zunächst Primer im Überschuss, DNA-Polymerasen und „Desoxy-Nukleosid-Triphosphate“ (nNTP) zum Probenmaterial hinzugegeben¹⁰⁵. nNTP sind die Bausteine der DNA¹⁰⁶. Primer sind kurze DNA-Sequenzen mit ungefähr einer Länge von 20 Basen¹⁰⁷. Sie passen komplementär zum Strang der Ziel-DNA¹⁰⁵. DNA-Polymerasen werden zumeist aus dem Bakterium „*Thermus aquaticus*“ gewonnen („Taq-Polymerase“)¹⁰⁸. Auch Enzyme von „*Pyrococcus furiosus*“ und „*Thermococcus litoralis*“ können benutzt werden^{107,109}. In dieser Studie wurde ein anderes Enzym verwendet, nämlich „*Tth*-Polymerase“, ein hitzestabiles Enzym des „*Thermus thermophilus*“¹¹⁰.

Für die PCR der Bakterien PG, AA und FN wurde ein spezieller Primer (PAF Primer) in einem Mastermix verwendet und für die PCR der Bakterien TF, PI, PM und interne Kontrolle (IK) wurde ein anderer spezieller Primer (PMT Primer) anstelle des PAF Primer im Mastermix verwendet. Für die interne Kontrolle wurde anstelle von Bakterien-DNA destilliertes Wasser verwendet.

Die PCR wurde entsprechend dem Protokoll des Herstellers durchgeführt:

1. Vorbereitung des Mastermix:
 - 35 µl Nukleotid-Mix
 - 35 µl PAF-Primer-Mix bzw. PMT-Primer-Mix
 - 175 µl 10xPCR-Puffer

- 70 µl UltraStart Tth-DNA-Polymerase
 - 1260 µl steriles H₂O
2. Mischen von 45 µl Mastermix (PAF bzw. PMT) und 5µl der Proben
 3. Pipettieren des Probenmaterials in eine Bio-Rad Hard Shell in der in Tabelle 3 aufgelisteten Anordnung

	<i>PAF</i>					<i>PMT</i>						
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>
<i>A</i>	1	9	17	25	IK	1	9	17	25	IK		
<i>B</i>	2	10	18	26		2	10	18	26			
<i>C</i>	3	11	19	27		3	11	19	27			
<i>D</i>	4	12	20	28		4	12	20	28			
<i>E</i>	5	13	21	29		5	13	21	29			
<i>F</i>	6	14	22	30		6	14	22	30			
<i>G</i>	7	15	23	31		7	15	23	31			
<i>H</i>	8	16	24	32		8	16	24	32			

Tabelle 3: Anordnung der Proben im Bio-Rad Hard Shell

4. Zentrifugieren des Probenmaterials für 2 Minuten mittels „Allegra 25R Centrifuge“ (Beckman Coulter, Brea, USA).

Danach wurde das Material im Thermal Cycler weiter bearbeitet. Es durchlief das in Tabelle 4 dargestellte Programm.

<i>Zyklus</i>	<i>Temperatur °C</i>	<i>Zeit</i>	<i>Reaktion</i>
<i>1x</i>	94	5 Minuten	Anfangsdenaturierung der DNS
<i>40x</i>	94	25 Sekunden	Denaturierung der DNS
	58	25 Sekunden	Bindung der Primer
	72	45 Sekunden	3'-OH Elongation der Primer
<i>1x</i>	72	3 Minuten	Finale Elongation

Tabelle 4: Programmierung der PCR in Bio-Rad

Dabei geschieht folgendes: Durch Erhitzen des Probenmaterials auf 94°C - 98°C wird die DNA getrennt (Denaturation), so dass die Primer sich an den komplementären Einzelstrang der Ziel-DNA anlagern können¹⁰⁷. Der Primer besetzt dafür immer das 3'-OH-Ende des zu kopierenden Einzelstranges. Für diese Anlagerung des Primers (Primer-Hybridisierung) wird die Temperatur auf ungefähr 55°C-65°C für 20-40 Sekunden gesenkt (Annealing)¹⁰⁹. Die DNA-Polymerase ist ein Komplex aus verschiedenen Proteinen, deren Aufgabe es ist, die DNA zu kopieren. Sie setzt am 3'-OH-Ende des Primers an und füllt den Strang mit den

fehlenden Nukleotiden auf (Elongation). Hierfür wird eine Temperatur von 72°C gewählt, da die Polymerase hier ihr Funktionsoptimum besitzt¹⁰⁹. Der Primer wird nicht wieder abgelöst sondern bleibt am Strang erhalten. Zum Schluss wird die Temperatur für die Haltbarkeit der Probe bei 4°C niedrig gehalten¹⁰⁹. Die neu entstandene DNA kann dann wieder denaturiert und weiter amplifiziert werden. So erhält man in kurzer Zeit eine Vielzahl von kopierter DNA. Dieser Vorgang wird in Abbildung 12 gezeigt.

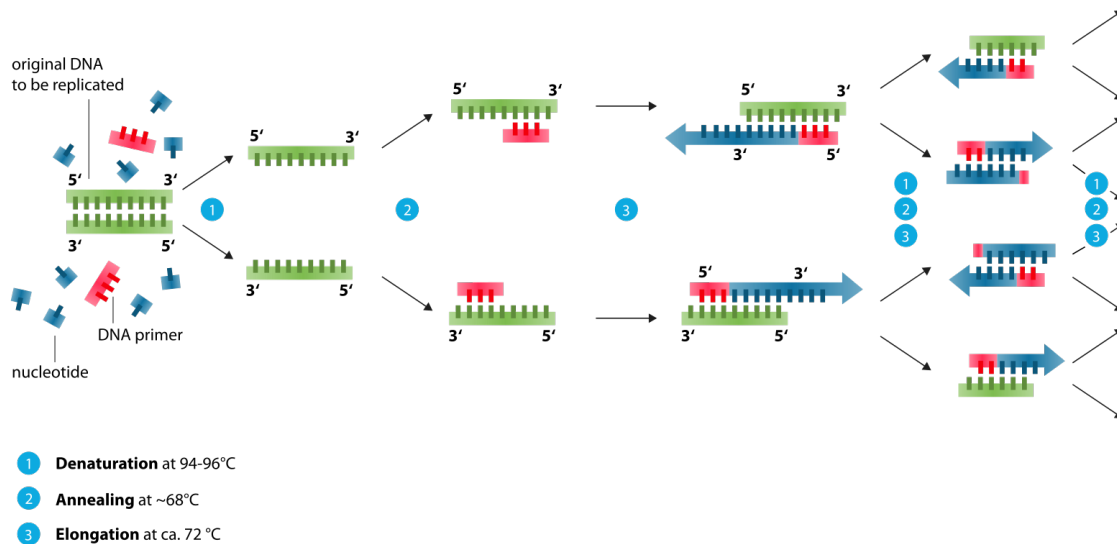


Abbildung 12: Schematische Darstellung des Ablaufs einer PCR. Abbildung übernommen aus Referenz ¹¹¹

Im dritten Schritt wurde mit dem ELISA Kit der Firma „Amplex, Gießen, Deutschland“ die Identifikation der DNA der Bakterien durchgeführt. Hierbei handelt es sich um die Sandwich-Technik eines ELISA. Der ELISA wurde nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt und umfasste folgende Schritte:

1. Langsames Auftauen der Proben (auf Eis gelagert)
2. Vorheizen von 175 ml stringenten Waschpuffer auf 50°C im Brutschrank Hybaid Shake 'n' Stack (Thermo Fisher, München, Deutschland) (Herstellung: 1+19 dH₂O)
3. Denaturierung der bakteriellen DNA auf der Platte im Thermal Cycle (BioRad) für zehn Minuten bei 95°C
4. Pipettieren von 300µl Hybridisierungslösung in Reagenzgefäßen (Sarstedt)
5. Bestückung der Parident-Platten mit Hybridisierungsmodulen
6. Pipettieren von 300 µl Hybridisierungslösung zusammen mit den Proben
7. Pipettieren von 50 µl davon in die Kavitäten der Mikrotiterplatte
8. Inkubation bei 50°C für 30 Minuten im Brutschrank Innovens Oven Incubator (Thermo Fisher, München)
9. Viermaliges stringentes Waschen mit 200 µl pro Kavität
10. Hinzufügen von 100 µl Peroxidasekonjugat pro Kavität
11. Inkubation bei 37°C für 30 Minuten
12. Dreimaliges Waschen mit 200 µl pro Kavität
13. Zugabe von 100 µl Substrat pro Kavität

14. Inkubation für 20 Minuten bei 37°C im Brutschrank Innovens Oven Incubator (*Thermo Fisher*, München)
15. Stoppen mit 100µl Stopp-Lösung pro Kavität
16. Extinktionsmessung mit Varioskan

Die Extinktion der Proben wurde mittels *Varioskan* (Software: *Skant Software 2.2* der Firma „*Thermo Fisher*“) bei 450 nm und 620 nm gemessen.

Die Kriterien dafür, dass eine Messung als fehlerfrei eingestuft wurde, waren:

- Blank kleiner oder gleich 0,100
- Extinktion der Negativkontrolle unter 0,150
- Interne Kontrolle über 0,500

Die Kriterien dafür, dass der Nachweis für ein Bakterium als positiv bewertet wurde, waren für die verschiedenen Bakterien unterschiedlich. Die Kriterien waren:

- AA > 0,300
- PG > 0,300
- FN > 0,300
- PI > 0,2
- TF > 0,2
- PM > 0,15
- TD > 0,2

3.4. MATRIXMETALLOPROTEINASE 8

MMP-8 wurde im Serum der Patienten bestimmt. Hierzu wurden zunächst die Proben langsam auf Eis aufgetaut. MMP-8 wurde mit dem KIT „*dentoELISA aMMP-8*“ der Firma „*dentognostics GmbH, Jena, Deutschland*“ bestimmt. ELISA wurde nach dem folgenden Protokoll durchgeführt:

1. Zuerst wurden 2 µl des Serums mit 98µl DIL-Lösung verdünnt
2. Von diesen 100µl wurden 10µl zu weiteren 90µl DIL-Lösung (Phosphatpuffer) gegeben.
3. Diese 100 µl wurden in die Mikrotitrationsplatte pipettiert, wobei jeweils die Probe eines Patienten in zwei unterschiedliche Kavitäten pipettiert wurde. Die Belegung der Proben wird in Tab. 5 dargestellt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	Cal2	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
B	BL	Cal2	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
C	Cal5	Cal1	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
D	Cal5	Cal1	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
E	Cal4	DIL	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
F	Cal4	DIL	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
G	Cal3	CTRL	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
H	Cal3	CTRL	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40

Tabelle 5: Belegung der MMP-8-Platte: BL= Blank; Cal5= Kalibrator 1,6ng/ml; Cal4= Kalibrator 1,0 ng/ml; Cal3= Kalibrator 0,5 ng/ml; Cal2= Kalibrator 0,25 ng/ml; Cal1= Kalibrator 0,125 ng/ml; DIL= MMP-8 Probenpuffer; CTRL= Positiv-Kontrolle 0,75 ng/ml

4. Inkubation der Platte für 30 Minuten bei 37°C im Brutschrank Innovens Oven Incubator (*Thermo Fisher*, München)
5. Dreimal Waschen mit 200 µl Waschpuffer pro Kavität (Waschpuffer mit dH₂O auf 1 Liter aufgefüllt)
6. Hinzufügen von 100 µl Konjugat pro Kavität
7. Inkubation für 30 Minuten bei 37°C im Brutschrank Innovens Oven Incubator (*Thermo Fisher*, München)
8. Dreimal Waschen mit 200 µl Waschpuffer
9. Hinzufügen von 100 µl Substrat pro Kavität
10. Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur und 500 rpm
11. Hinzufügen von 100µl Stopp-Lösung pro Kavität

Die Extinktion der Proben wurde mittels *Varioskan* (Software: *Skant Software 2.2*) bei 450 nm und 620 nm ermittelt. Jede Probe wurde doppelt pipettiert, um Messfehler aufzuzeigen. Falls sich die zwei Extinktionswerte um mehr als zehn Prozent unterschieden, wurde die Analyse des Probenmaterials dieses Patienten erneut durchgeführt. Der verwendete Wert ist der Mittelwert der doppelten Pipettierung.

3.5. SURFACTANT PROTEIN D

SP-D wurde im Serum der Patienten bestimmt. Zunächst wurden die Proben langsam auf Eis aufgetaut. SP-D wurde mit dem KIT „*Human Surfactant Protein D ELISA*“ der Firma „*BioVendor, Asheville, NC, USA*“ bestimmt. Der ELISA wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:

1. Zunächst wurde eine Standardreihe durch schrittweise Verdünnung erstellt. Hierzu wurde der „Master Standard“ mit 1,2 ml „Dilution Puffer“ (gebrauchsfertig im KIT enthalten) aufgelöst und für 15 Minuten auf dem Minishaker gelagert.
2. Die Tabelle 6 zeigt, wie der „Masterstandard“ (S1) dann schrittweise mit jeweils 300µl Dilution Buffer weiter verdünnt wurde.

	Verdünnung	Konzentration
S1	Keine Verdünnung	100ng/ml
S2	S1 + 300µl Dilution Buffer	50 ng/ml
S3	S2 + 300µl Dilution Buffer	25 ng/ml
S4	S3 + 300µl Dilution Buffer	12,5 ng/ml
S5	S4 + 300µl Dilution Buffer	6,25 ng/ml
S6	S5 + 300µl Dilution Buffer	3,13 ng/ml
S7	S6 + 300µl Dilution Buffer	1,56 ng/ml

Tabelle 6: Darstellung der Verdünnung für die Standardreihe

3. „Quality Control H+L“ wurden ebenfalls mit Dilution Buffer (100µl pro Kontrolle) aufgelöst und auf den Minishaker gelegt.
4. Verdünnung von High und Low jeweils im Verhältnis 1:10 (+ 25µl High, bzw. Low + 250µl Dilution Buffer)
5. Verdünnung der Proben im Verhältnis 1:49 (5µl der Proben + 245µl Dilution Buffer)
6. Belegung der SP-D-Platte gemäß Tab. 7 mit 100µl pro Kavität

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BI	S4	HI	3	7	11	15	19	23	27	31	35
B	BI	S4	Hi	3	7	11	15	19	23	27	31	35
C	S1	S5	LO	4	8	12	16	20	24	28	32	36
D	S1	S5	LO	4	8	12	16	20	24	28	32	36
E	S2	S6	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
F	S2	S6	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
G	S3	S7	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
H	S3	S7	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38

Tabelle 7: Belegung der SP-D-Platte: BI= Dilution Buffer; S1= MasterStandard; HI= High; LO= Low

7. Inkubation bei Raumtemperatur und bei 300 U/min für zwei Stunden
8. Zweimal Waschen mit 350 µl und dreimal Waschen mit 250 µl Waschpuffer
9. Hinzugeben von 100 µl Biotin Labelled Antibody pro Kavität
10. Inkubation für eine Stunde mit 300U/min bei Raumtemperatur
11. Zweimal Waschen mit 350 µl und dreimal Waschen mit 250µl Waschpuffer
12. Hinzugeben von 100 µl Streptavidin-HRP-Conjugat pro Kavität
13. Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur und 300 U/min
14. Hinzugeben von 100 µl Substrat Solution pro Kavität
15. Inkubation unter Alufolie für 15 Minuten im Brutschrank Innovens Oven Incubator (Thermo Fisher, München)
16. Hinzugeben von 100 µl Stopp-Lösung pro Kavität

Die Extinktion der Proben wurde mittels Varioskan (Software: Skanlt Software 2.2) bei 450 nm und 620 nm ermittelt. Jede Probe wurde doppelt pipettiert, um Messfehler aufzuzeigen. Falls sich die zwei Extinktionswerte um mehr als zehn Prozent unterschieden, wurde die Analyse des Probenmaterials dieser Patienten erneut durchgeführt. Der verwendete Wert ist der Mittelwert der doppelten Pipettierung.

3.6. STATISTISCHE ANALYSE

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit dem Programm SPSS Version 25 (IBM Corp, Somers, New York) durchgeführt.

Für Tests auf Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest verwendet. Mit der Methode der einfaktoriellen ANOVA wurde getestet, ob sich die Mittelwerte der anhand der kategorialen Variablen gebildeten Untergruppen signifikant unterscheiden. Parallel zur einfaktoriellen ANOVA wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests geprüft, ob die zentralen Tendenzen dieser Gruppen verschieden sind. Kategoriale Daten wurden mit Hilfe von Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat- bzw. Fishers-Exakt-Test geprüft.

Die Ermittlung des Beitrags aller unabhängigen Parameter auf die Wahrscheinlichkeit des Wertes für die Änderung des abhängigen Parameters Parodontitisstadium von 0 auf 1 erfolgte durch eine logistische Regression. Mit Hilfe einer Regressionsanalyse wurde der Beitrag der einzelnen Parameter zu dem Wert des Parodontitisstadiums ermittelt.

Mittels der Spearman-Rho-Rang-Korrelationsanalyse wurde für alle Parameter der paarweise Zusammenhang ermittelt. Das Signifikanzniveau wurde für alle Tests auf 0,05 gesetzt.

4. ERGEBNISSE

4.1. ALLGEMEINE EIGENSCHAFTEN DES STUDIENKOLLEKTIVS

Die Gesamtzahl der Patienten im Studienkollektiv betrug 170 Patienten. Für diese 170 Patienten wurde der Zusammenhang zwischen der Schwere des Parodontitisstadiums und der Expression der beiden Biomarker im Serum bzw. dem Nachweis der parodontal pathogenen Bakterien untersucht. Wegen fehlender Werte wurden in den statistischen Analysen nur 162 Patienten berücksichtigt, für welche alle Daten vollständig vorlagen.

Von diesen 162 Patienten wurden bei der Anamnese 106 (65,4%) in die Kategorie PA-Stadium leicht-mäßig und 56 (34,6%) in die Kategorie PA-Stadium schwer eingestuft.

Die Tabelle 8 zeigt die prozentualen Anteile der verschiedenen Patientengruppen an der Studienpopulation und den beiden Untergruppen PA-Stadium leicht und PA-Stadium schwer

	Gesamt	Relative Häufigkeit	PA-Stadium leicht	PA-Stadium schwer
Gesamt	162	100%	65,4%	34,6%
Frauen	75	46,3%	66,7%	33,3%
Männer	87	53,7%	64,3%	35,7%
Nichtraucher	82	50,6%	79,3%	20,7%
Raucher	80	49,4%	51,3%	48,7%
kaukasisch	138	85,2%	63,8%	36,2%
asiatisch	8	4,9%	25,0%	75,0%
afrikanisch	4	2,5%	0,0 %	100%
arabisch	5	3,1%	60,0%	40,0%
nicht definiert	7	4,3%	71,4%	28,6%
Altersmittel \pm SD	50,7 \pm 9,7		50,3 \pm 10,7	51,5 \pm 7,4

Tabelle 8: Aufteilung auf die Studienpopulation und die beiden Kategorien der Schwere der Parodontitis in Abhängigkeit von Geschlecht, Rauchverhalten und ethnischer Abstammung

Der Altersdurchschnitt aller Patienten betrug 50,7 Jahre und die Standardabweichung 9,7 Jahre, in der Gruppe PA-Stadium leicht betrug der Mittelwert 50,5 \pm 10,7 Jahre und in der Gruppe PA-Stadium schwer 51,5 \pm 7,4 Jahre (Tab.8).

Von den 162 Patienten waren Männer etwas häufiger vertreten als Frauen. Der Anteil der Frauen betrug 46,3% der Patienten (75 Patienten) und der Anteil der Männer 53,7% (87 Patienten). Die beiden Gruppen unterschieden sich bezüglich der Schwere des PA-Stadiums nicht signifikant. 50 Frauen (66,7%) wurden in die Gruppe PA-Stadium leicht eingestuft und 25 Frauen (33,3%) in die Gruppe PA-Stadium schwer. Bei 56 Männer (64,4%) wurde PA-Stadium leicht diagnostiziert und bei 31 (35,7%) Männer das PA-Stadium schwer (Abb. 13). Der exakte Test nach Fisher zeigt, dass es keinen signifikanten Zusammenhang gibt.

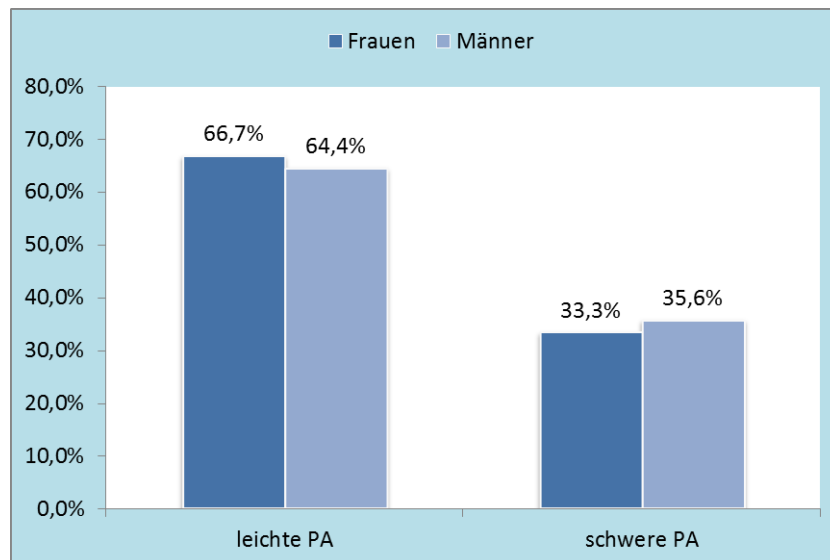


Abbildung 13: Verteilung der Frauen und Männer auf die beiden PA-Stadien

Raucher und Nichtraucher waren annähernd gleich oft vertreten. Der Anteil der Nichtraucher betrug 50,6% (82 Patienten) und der Raucher 49,4% (80 Patienten). Leichte Parodontitis wurde bei 65 (61,3%) der Nichtraucher und 41 (38,7%) der Raucher diagnostiziert. In das PA-Stadium schwer wurden 17 (38,7%) Nichtraucher und 39 (69,9%) Raucher eingestuft. Es fällt auf, dass etwa zwei Drittel der Nichtraucher an einer leichten Parodontitis leiden, während bei den Rauchern nur ein Drittel in diese Gruppe fallen und zwei Drittel der Raucher in die Gruppe PA-Stadium schwer eingestuft wurden (Abb. 14). Der exakte Test nach Fisher zeigt, dass der Zusammenhang zwischen dem PA-Stadium und dem Rauchen hoch signifikant ist ($p < 0.0001$).

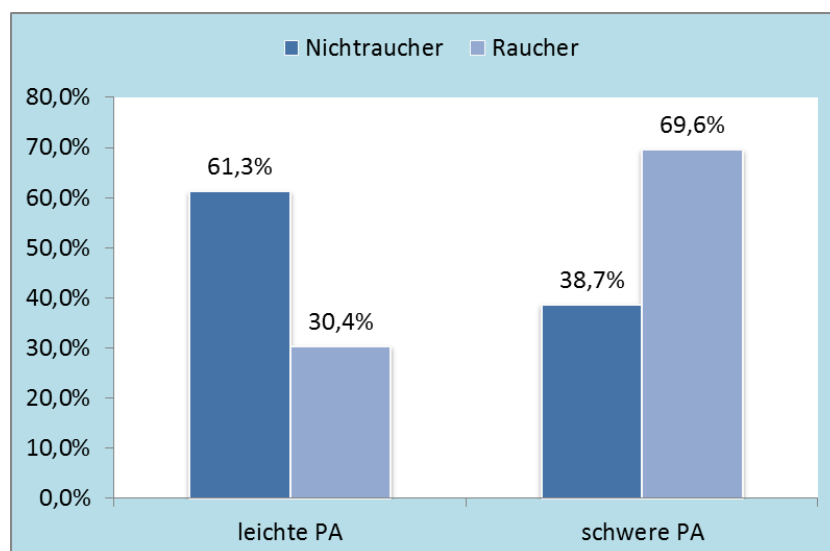


Abbildung 14: Verteilung von Nichtrauchern und Rauchern auf die beiden PA-Stadien

Die große Mehrheit der Patienten war mit 138 Personen (85,2%) kaukasischer Herkunft. Acht Personen (4,9%) waren asiatischer, 4 Personen (2,5%) waren afrikanischer und 5 Personen (3,1%) arabischer Herkunft. Bei 7 Personen (4,3%) war die Herkunft unklar, weshalb sie in die Gruppe („nicht definiert“) eingestuft wurden. 88 (63,8%) der Personen kaukasischer Herkunft wurden in das PA-Stadium leicht eingestuft, ebenso 6 (75%) Personen asiatischer Herkunft, 4 (100%) Personen afrikanischer Herkunft, 2 (50%) Personen arabischer Herkunft sowie 5 (71,4%) Personen mit nicht definierter Herkunft. Bei 50 (36,2%) Personen kaukasischer Herkunft wurde PA-Stadium schwer diagnostiziert, ebenso bei 2 (25%) Personen asiatischer Herkunft, 2 (40%) Personen arabischer Herkunft sowie 2 (28,6%) Personen mit nicht definierter Herkunft (Abb. 15).

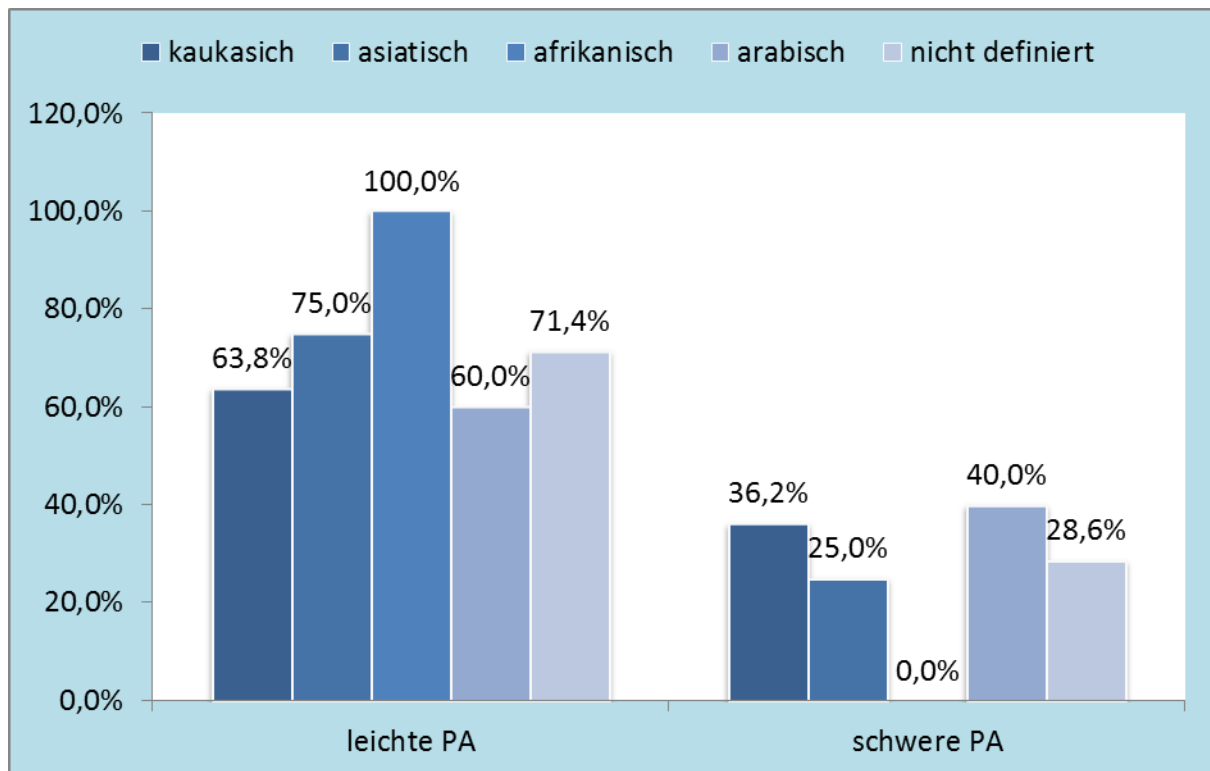


Abbildung 15: Verteilung der verschiedenen ethnischen Gruppen auf die PA-Stadien

In dieser Studie kann der Parameter Knochenverlust elf verschiedene Werte annehmen und zwar 10%, 20%, in Zehnerschritten bis 100% und zusätzlich ist noch der Wert 95% möglich (Abb. 16). 10% Knochenverlust liegt bei einem Patienten vor (0,9% der Patienten mit PA-Stadium leicht), 20% Knochenverlust bei 3 Patienten (2,8%), 30 % Knochenverlust bei 16 Patienten (15,1%) und 40% Knochenverlust bei 29 Patienten (27,4%).

Die Patienten in den folgenden Gruppen unterscheiden sich dadurch, dass bei Patienten mit PA-Stadium leicht der Knochenverlust an weniger als 7 Zähnen vorliegt und bei der anderen Gruppe an 7 Zähnen oder mehr. Für die Patienten mit PA-Stadium leicht ergeben sich für diese Gruppen folgende Werte: 50% Knochenverlust bei 28 Patienten (26,4%), 60%

Knochenverlust bei 18 Patienten (17,0%), 70% Knochenverlust bei 7 Patienten (6,6%) und 80% Knochenverlust bei 4 Patienten (3,8%). Für Patienten mit PA-Stadium schwer wurden folgende Werte ermittelt: 50% Knochenverlust bei 11 Patienten (19,6%), 70% Knochenverlust bei 15 Patienten (26,8%), 80% Knochenverlust bei 20 Patienten (35,7%), 90% Knochenverlust bei 2 Patienten (3,6%), 95% Knochenverlust bei 2 Patienten (3,6%) und 100% Knochenverlust bei einem Patienten (1,8%).

Der Zusammenhang zwischen Knochenverlust und dem PA-Stadium ist hoch signifikant. Die Chi-Quadrat-Tests ergeben $p < 0,0001$.

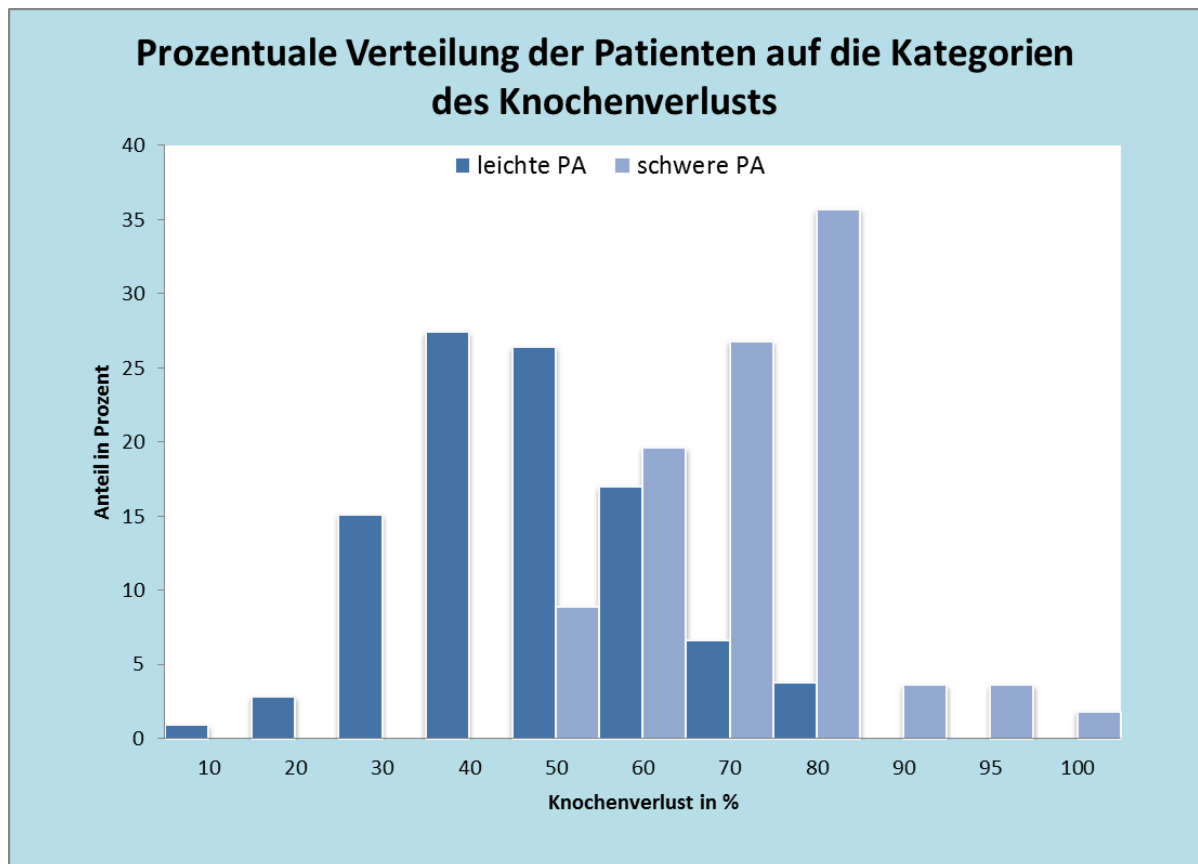


Abbildung 16: Prozentuale Verteilung der Patienten mit Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ auf die 11 Kategorien des Parameters „Knochenverlust“

Mit einer einfaktoriellen ANOVA wurde untersucht, ob es bezüglich der Parameter „Alter des Patienten“ und „Anzahl der Zähne“ Unterschiede zwischen den beiden Untergruppen „leichte“ und „schwere“ Parodontitis gab (Tabelle 9).

	Mittelwert leicht	N	Mittelwert schwer	N	Mittelwert gesamt	N	p-Wert
Alter des Patienten	50,31	106	51,46	55	50,71	161	0,473
Anzahl Zähne	25,14	106	22,96	56	24,39	162	0,006

Tabelle 9: Ergebnisse ANOVA für die beiden Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ und Alter des Patienten bzw. Anzahl der Zähne

Es zeigte sich, dass das Durchschnittsalter der Patienten in beiden Untergruppen annähernd gleich war. Bezüglich der Anzahl der Zähne ergab sich ein hochsignifikanter Unterschied in den Mittelwerten der beiden Untergruppen. Patienten mit schwerer Parodontitis hatten im Durchschnitt weniger Zähne als Patienten mit leichter Parodontitis.

Parodontal pathogene Bakterien und PA-Stadium

Nachweis von AA

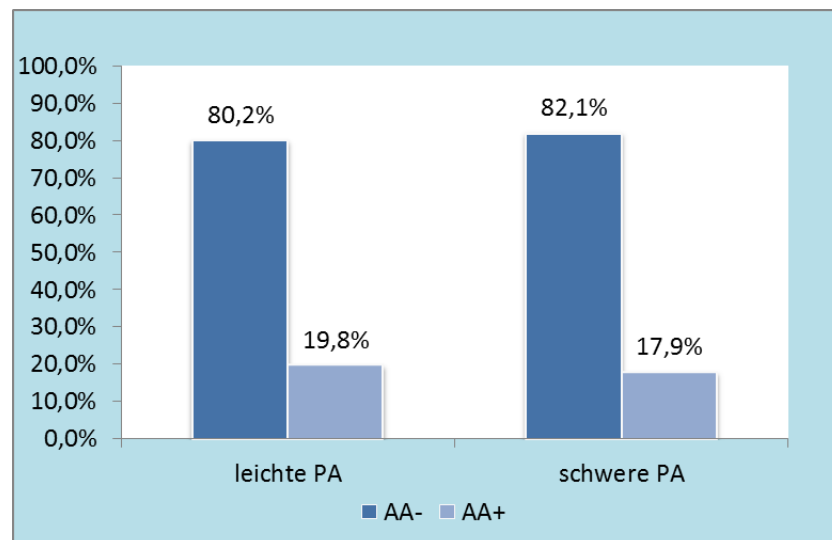


Abbildung 17: Nachweis von AA bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 131 (80,9%) der 162 Patienten konnte das Bakterium AA im Speichel nicht nachgewiesen werden und bei 31 Patienten (19,1%) war der Nachweis von AA positiv. In der Untergruppe „leichtes PA-Stadium“ ließ sich bei 85 (80,2%) Patienten das Bakterium AA nicht nachweisen und bei 21 (19,8%) Patienten war der Nachweis positiv. In der Untergruppe „schweres PA-Stadium“ waren 46 (82,1%) Patienten AA negativ und 10 Patienten (17,9%) AA positiv (Abb. 17).

Nachweis von PG

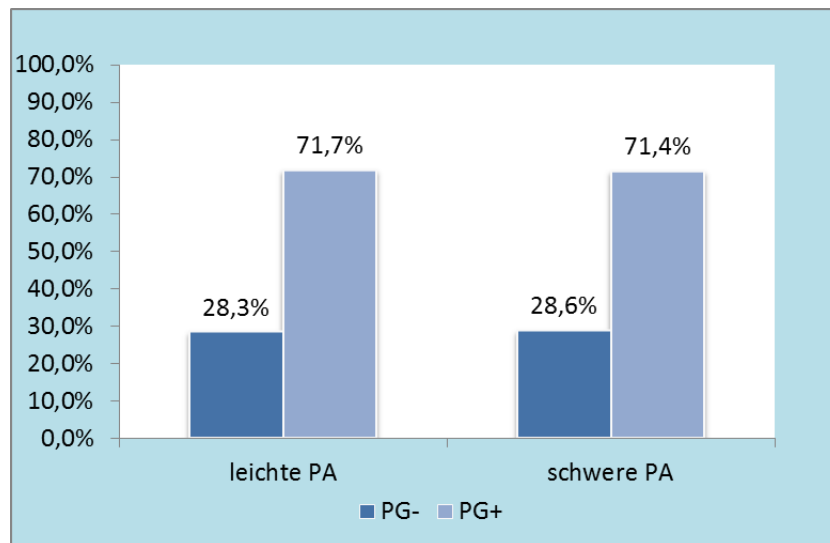


Abbildung 18: Nachweis von PG bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 116 (71,6%) der 162 Patienten wurde das Bakterium PG nachgewiesen und 46 Patienten (28,4%) waren PG negativ. In der Gruppe „PA-Stadium leicht“ mit 106 Patienten waren 30 (28,3%) Patienten PG negativ, während bei 76 (71,7%) Patienten der Nachweis von PG positiv war. Bei den 56 Patienten der Gruppe „PA-Stadium schwer“ waren 16 (28,6%) Patienten PG negativ und 40 (71,4%) Patienten PG positiv (Abb. 18).

Nachweis von FN

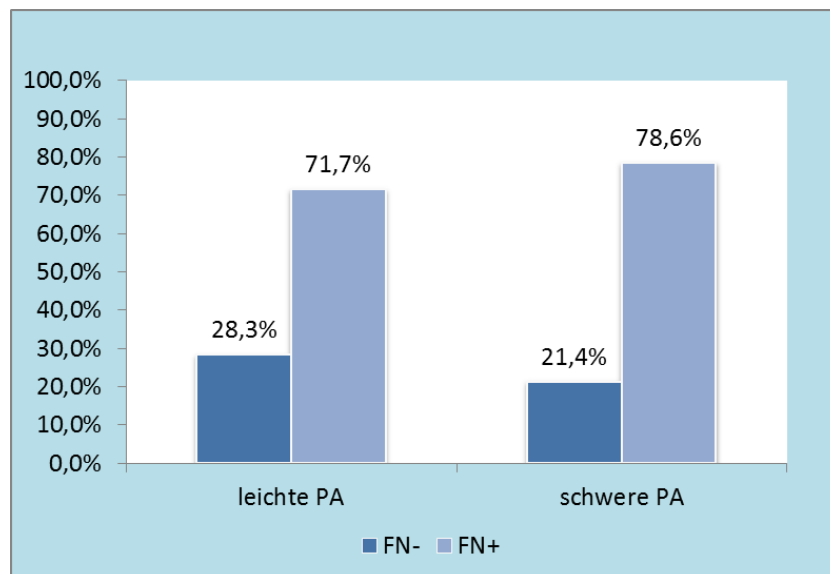


Abbildung 19: Nachweis von FN bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 42 (26,0%) Patienten konnte das Bakterium FN nicht nachgewiesen werden und 120 (74,0%) Patienten wurden positiv auf FN getestet. In der Untergruppe „leichtes PA-Stadium“

ließ sich bei 30 (28,3%) Patienten das Bakterium FN nicht nachweisen und bei 76 (71,7%) Patienten war der Nachweis positiv. In der Untergruppe „schweres PA-Stadium“ waren 12 (21,4%) Patienten FN negativ und 44 Patienten (78,6%) FN positiv (Abb. 19).

Nachweis von PI

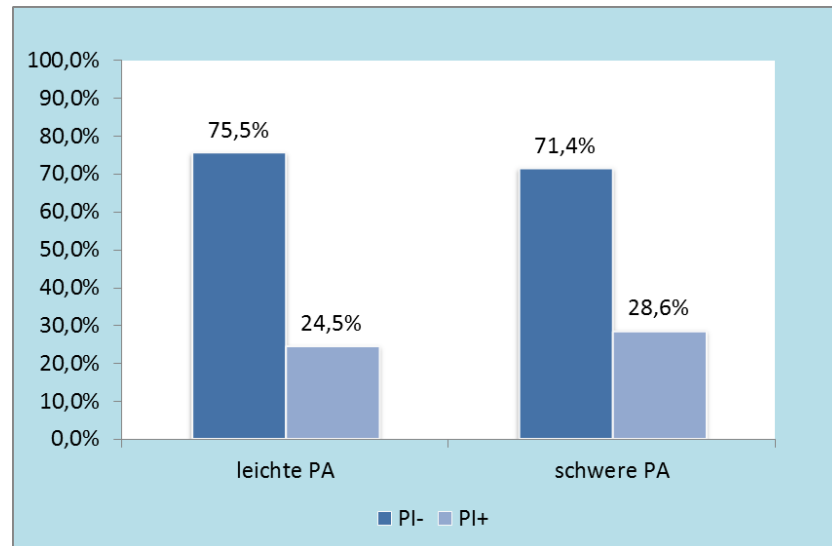


Abbildung 20: Nachweis von PI bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 120 (74,1%) Patienten konnte das Bakterium PI nicht nachgewiesen werden und bei 42 (25,9%) Patienten war der Nachweis von PI positiv. In der Untergruppe „leichtes PA-Stadium“ ließ sich bei 80 (75,5%) Patienten das Bakterium PI nicht nachweisen und 26 (24,5%) Patienten waren PI positiv. In der Untergruppe „schweres PA-Stadium“ waren 40 (71,4%) Patienten PI negativ und 16 Patienten (28,6%) PI positiv (Abb. 20).

Nachweis von TF

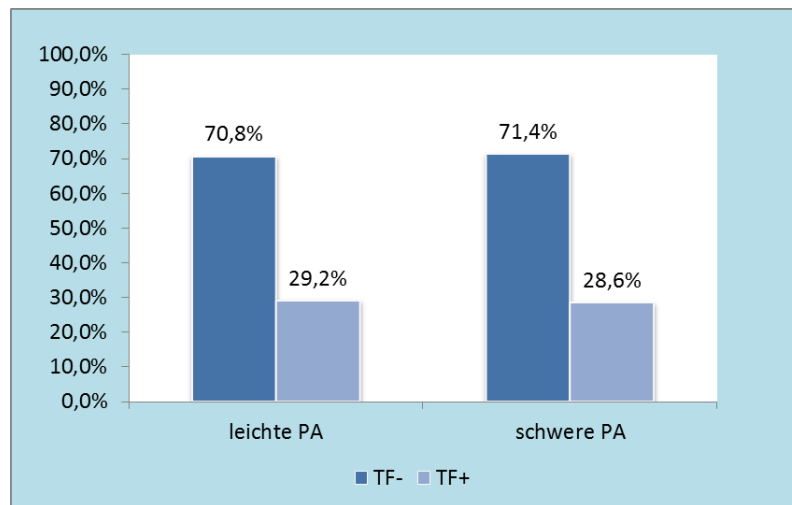


Abbildung 21: Nachweis von TF bezogen auf die beiden PA-Stadien

Im Speichel von 106 (65,4%) Patienten konnte das Bakterium TF nicht nachgewiesen werden und 56 (34,6%) Patienten waren TF positiv. In der Untergruppe „leichtes PA-Stadium“ ließ sich bei 75 (70,8%) Patienten das Bakterium TF nicht nachweisen und bei 31 (29,2%) Patienten war der Nachweis positiv. In der Untergruppe „schweres PA-Stadium“ waren 40 (71,4%) Patienten TF negativ und 16 Patienten (28,6%) TF positiv (Abb. 21).

Nachweis von PM

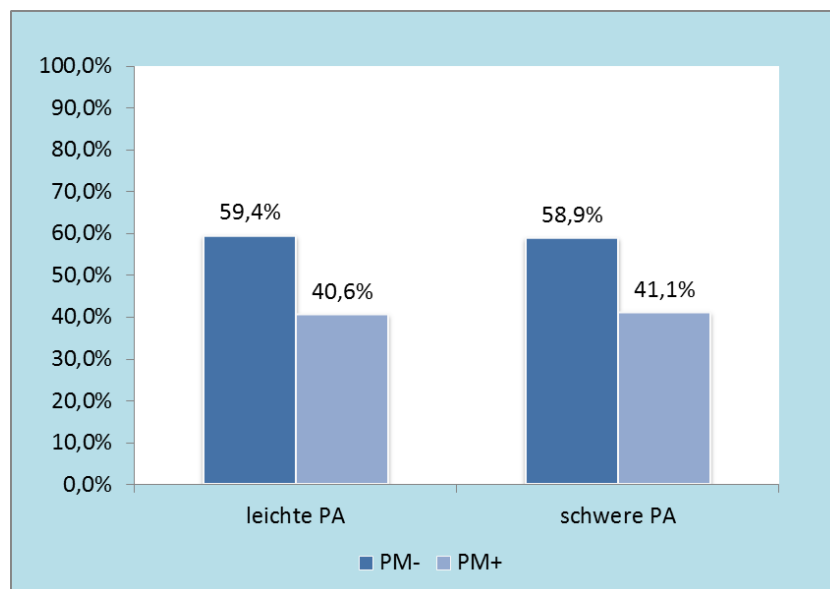


Abbildung 22: Nachweis von PM bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 96 (59,3%) der 162 Patienten wurde das Bakterium PM nicht nachgewiesen und 66 Patienten (40,7%) waren PM positiv. In der Gruppe „PA-Stadium leicht“ mit 106 Patienten

waren 63 (59,4%) Patienten PM negativ, während bei 43 (40,6%) Patienten der Nachweis von PM positiv war. Bei den 66 Patienten der Gruppe „PA-Stadium schwer“ waren 33 (58,9%) Patienten PM negativ und 23 (41,1%) Patienten PM positiv (Abb. 22).

Nachweis von TD

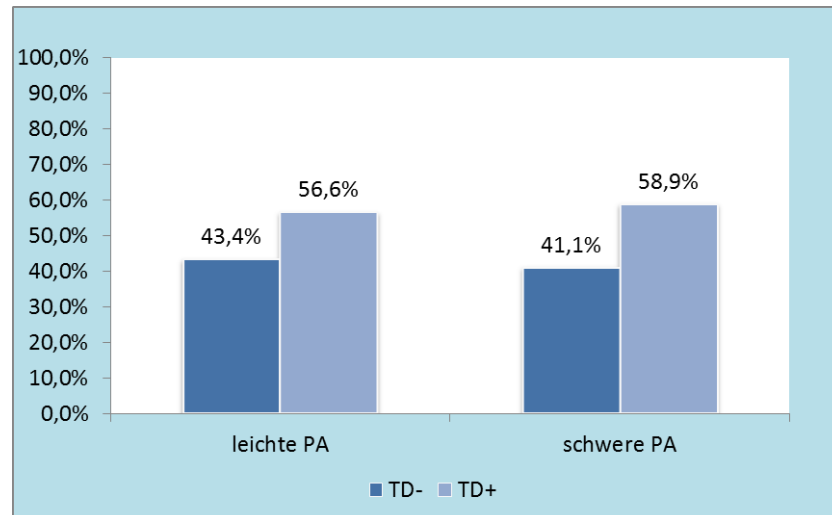


Abbildung 23: Nachweis von TD bezogen auf die beiden PA-Stadien

Bei 69 (42,6%) Patienten konnte das Bakterium PI nicht nachgewiesen werden und bei 93 (57,4%) Patienten war der Nachweis von PI positiv. In der Untergruppe „leichtes PA-Stadium“ ließ sich bei 46 (43,4%) Patienten das Bakterium PI nicht nachweisen und 60 (56,6%) Patienten waren PI positiv. In der Untergruppe „schweres PA-Stadium“ waren 23 (41,1%) Patienten PI negativ und 33 Patienten (58,9%) PI positiv (Abb. 23).

Betrachtet man die Anzahl der bei den einzelnen Patienten nachgewiesenen parodontal pathogenen Bakterien, dann existiert kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. In beiden Gruppen finden sich Patienten ohne positiven Nachweis als auch Patienten, bei denen alle sieben Bakterien nachgewiesen werden konnten. In der Gruppe PA-Stadium leicht sind 9 (8,5%) Patienten auf alle Bakterien negativ und in der Gruppe PA-Stadium schwer sind es 4 (7,1%). In der Gruppe PA-stadium leicht konnten bei 3 (2,%) Patienten alle sieben Bakterien nachgewiesen werden und in der Gruppe PA-Stadium schwer war für 1 (1,8%) Patienten der Nachweis in allen Fällen positiv (Abb. 24).

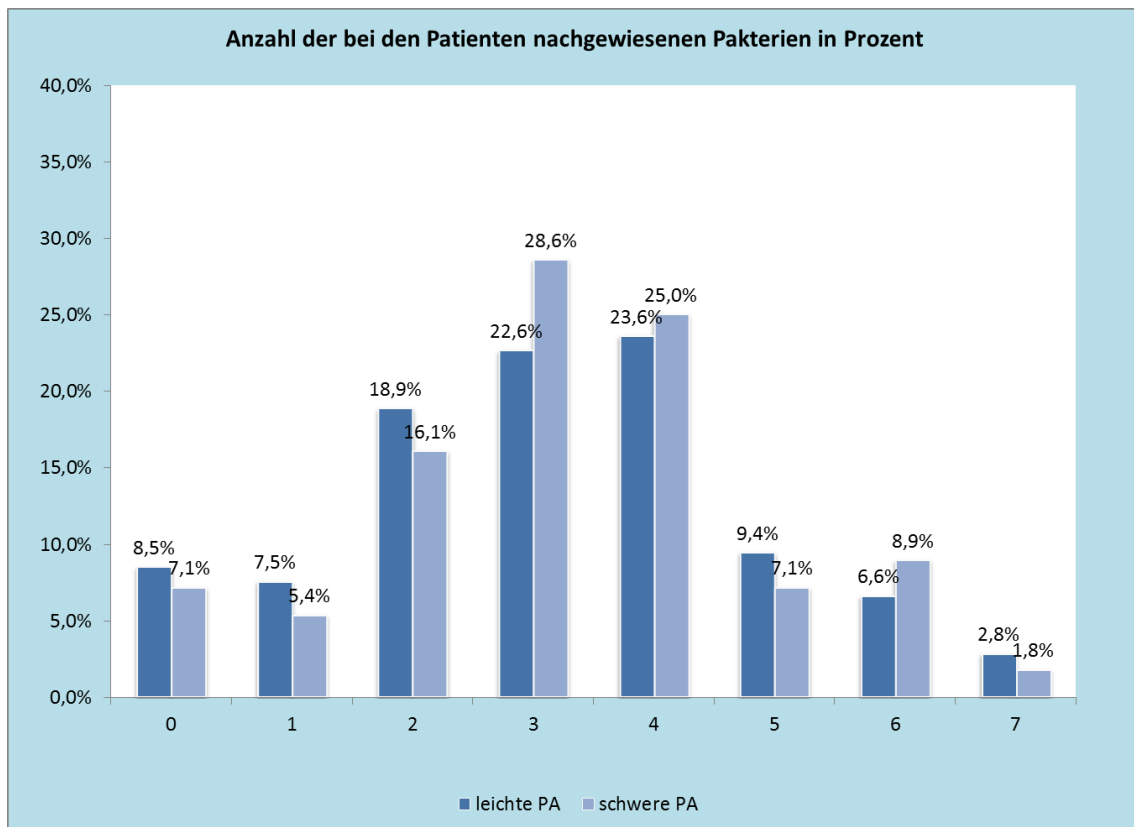


Abbildung 24: Anzahl der bei den Patienten nachgewiesenen Bakterien

4.2. EXPLORATIVE ANALYSE: SP-D IM SERUM

Zunächst wurde untersucht, ob sich die Verteilung der Werte für SP-D im Serum unterscheiden, wenn man die Gesamtmenge mit der Untergruppe „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ vergleicht. Es wurde untersucht, ob und wie sich die Verteilungen der Werte für SP-D im Serum in der Gesamtmenge und innerhalb der beiden Studiengruppen „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ unterscheiden.

Einen Überblick über die drei Verteilungen zeigt der Boxplot in Abbildung 25.

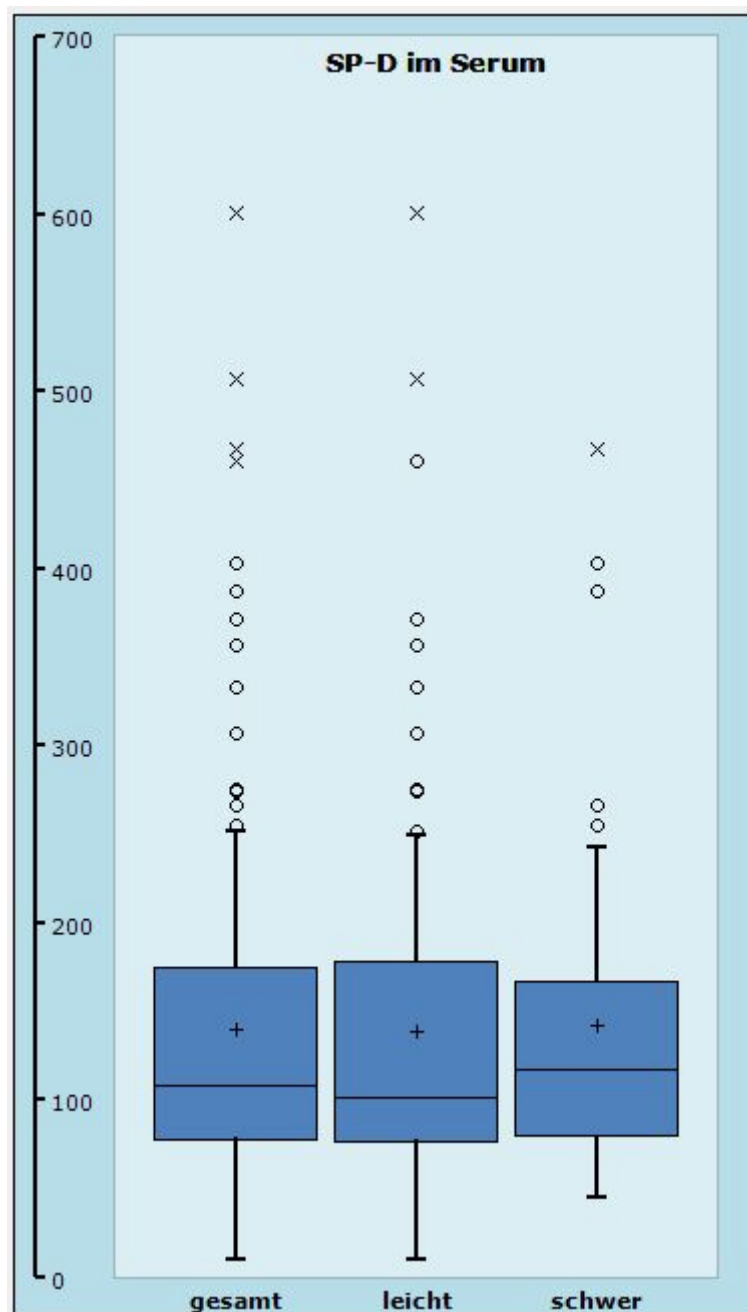


Abbildung 25: Boxplot Konzentration von SP-D im Serum in Abhängigkeit vom Parodontitisstadium bei den Patienten dieser Studie (Hinweis: der extreme Ausreißer mit 2517 ng/ml wird nicht gezeigt, wurde aber berücksichtigt.)

Der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest hat gezeigt, dass mit einem $p < 0,0001$ beide Untermengen nicht normalverteilt sind. Deshalb wurden mit Hilfe eines Mann-Whitney-Tests die mittleren Ränge für die beiden Untergruppen „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ verglichen. Dabei ergibt sich ein mittlerer Rang von 79,68 für die Untergruppe „PA-Stadium leicht“ und 84,95 für die Untergruppe „PA-Stadium schwer“. Der Unterschied ist nicht signifikant.

4.3. KNOCHENVERLUST UND EXPRESSION VON SP-D IM SERUM

Wie bereits beschrieben, ist der Parameter Knochenverlust mit der Schwere des PA-Stadiums hoch signifikant korreliert. In dieser Studie wurde untersucht, ob ein stärkerer Knochenverlust mit erhöhten Werten des Biomarkers SP-D im Serum einhergeht. Tabelle 10 zeigt die Mittelwerte von SP-D im Serum für die unterschiedlichen Kategorien des Knochenverlusts. Eine einfaktorielle ANOVA ergab, dass der Zusammenhang nicht signifikant ist.

Knochenverlust	N	Mittelwert SP-D im Serum [ng/mL]
10%	1	189,9
20%	3	127,7
30%	16	159,3
40%	29	152,5
50%	33	131,7
60%	29	120,5
70%	22	106,1
80%	24	176,6
90%	2	125,0
95%	2	91,5
100%	1	266,4
Gesamt		139,9

Tabelle 10: Mittelwerte von SP-D im Serum in Bezug auf die Kategorien des Parameters Knochenverlust

4.4. EXPLORATIVE ANALYSE: MMP-8 IM SERUM

Es wurde untersucht, ob und wie sich die Verteilungen der Werte für MMP-8 im Serum in der Gesamtmenge und innerhalb der beiden Studiengruppen „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ unterscheiden.

Einen Überblick über die drei Verteilungen zeigt der Boxplot in Abbildung 26.

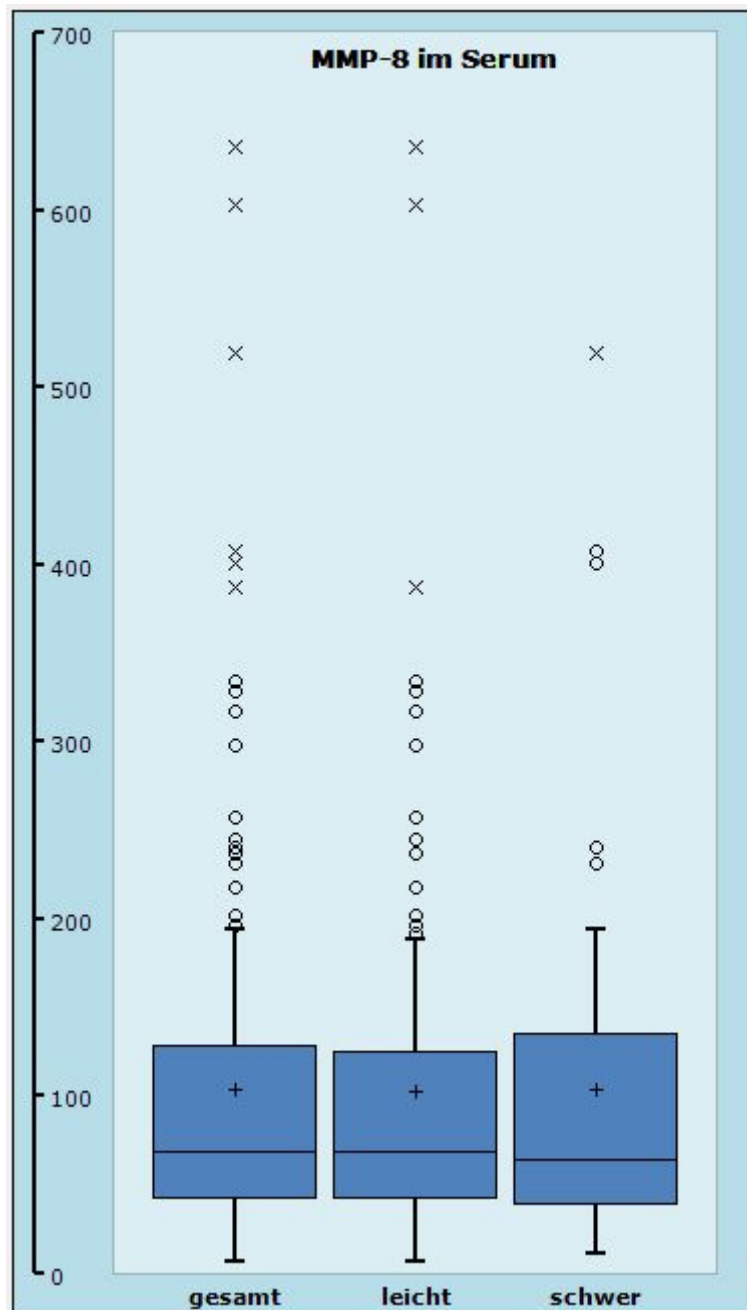


Abbildung 26: Boxplot Konzentration von MMP-8 im Serum in Abhängigkeit vom Parodontitis-Stadium bei den Patienten dieser Studie

Die Abbildung 26 zeigt die Unterschiede zwischen den beiden Boxplots „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“:

Der Kolmogorov-Smirnov-Test hat für MMP-8 im Serum gezeigt, dass mit einem $p < 0,0001$ für beide Untermengen keine Normalverteilung der Daten besteht. Deshalb wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests die Unterschiede der MMP8-Konzentration im Serum zwischen den beiden Untergruppen „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ verglichen. Der Unterschied ist nicht signifikant.

4.5 KNOCHENVERLUST UND EXPRESSION VON MMP-8 IM SERUM

Tabelle 11 zeigt die Mittelwerte der MMP-8 Konzentration im Serum in Abhängigkeit vom Knochenverlust. Die Analyse mit Hilfe der einfaktoriellen ANOVA ergab, dass der Zusammenhang nicht signifikant ist.

Knochenverlust	N	Mittelwert MMP-8 im Serum [ng/mL]
10%	1	115,2
20%	3	131,1
30%	16	85,2
40%	29	99,0
50%	33	122,6
60%	29	90,7
70%	22	106,4
80%	24	108,9
90%	2	61,0
95%	2	57,3
100%	1	169,9
Gesamt	162	103,6

Tabelle 11: Mittelwerte von MMP-8 im Serum in Bezug auf die Kategorien des Parameters Knochenverlust

4.6. EXPRESSION VON SP-D IM SERUM UND MMP-8 IM SERUM IN ABHÄNGIGKEIT VON GESCHLECHT, RAUCHVERHALTEN UND ETHNISCHER ABSTAMMUNG

Die Expression von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum wurde in Abhängigkeit von Geschlecht, Rauchverhalten und ethnischer Abstammung für die Gesamtpopulation und die anhand dieser Parameter gebildeten Untergruppen auf signifikante Unterschiede getestet. Die folgenden Tabellen zeigen die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	Bezugsgruppe	leicht	schwer	p-Wert
SP-D im Serum	gesamt	138,53 ± 97,84	142,42 ± 87,39	0,803
MMP-8 im Serum	gesamt	103,21 ± 105,5	104,27 ± 99,85	0,951

Tabelle 12: Mittelwerte und Standardabweichung von SP-D und MMP-8 im Serum für die Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ für die Gesamtpopulation

Die Mittelwerte der Biomarker SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die beiden Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ sind sehr ähnlich. Die statistische Analyse zeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Werten gibt. Die Tabelle 13 zeigt die Mittelwerte der Biomarker in Abhängigkeit vom Geschlecht.

	Bezugsgruppe	leicht	schwer	p-Wert
SP-D im Serum	Frauen	153,94 ± 103,67	125,26 ± 63,4	0,209
MMP-8 im Serum	Frauen	105,56 ± 105,31	96,03 ± 106,85	0,714
SP-D im Serum	Männer	124,77 ± 91,06	156,26 ± 101,70	0,142
MMP-8 im Serum	Männer	101,12 ± 106,59	110,91 ± 95,09	0,671

Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen von SP-D und MMP-8 im Serum für die Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ in Abhängigkeit vom Geschlecht

Für die Teilpopulationen „Frauen“ und „Männer“ findet die statistische Analyse, dass sich die Mittelwerte der beiden Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ nicht signifikant unterscheiden. Tabelle 14 zeigt die Unterschiede der Mittelwerte der Biomarker in Abhängigkeit vom Rauchverhalten.

	Bezugsgruppe	leicht	schwer	p-Wert
SP-D im Serum	Nichtraucher	123,20 ± 88,56	112,50 ± 57,82	0,638
MMP-8 im Serum	Nichtraucher	99,86 ± 98,92	67,22 ± 45,50	0,188
SP-D im Serum	Raucher	162,82 ± 107,69	155,47 ± 95,25	0,748
MMP-8 im Serum	Raucher	108,54 ± 117,15	120,42 ± 112,59	0,645

Tabelle 14: Mittelwerte und Standardabweichungen von SP-D und MMP-8 im Serum für die Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ in Abhängigkeit vom Rauchverhalten

Für die Teilpopulationen „Nichtraucher“ und „Raucher“ unterscheiden sich die Mittelwerte der beiden Biomarker SP-D im Serum und MMP-8 im Serum deutlich, aber die p-Werte der statistische Analyse in Tabelle 14 ergeben für die Teilpopulationen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der beiden Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“.

Die Tabelle 15 enthält die Mittelwerte für die Expression der beiden Biomarker in Abhängigkeit von der ethnischen Abstammung.

	Bezugsgruppe	leicht	schwer	p-Wert
SP-D im Serum	kaukasisch	140,52 ± 102,93	142,97 ± 89,18	0,888
MMP-8 im Serum	kaukasisch	102,27 ± 109,57	106,44 ± 103,77	0,827
SP-D im Serum	arabisch	95,00 ± 27,98	149,46 ± 91,86	0,378
MMP-8 im Serum	arabisch	63,12 ± 23,35	95,90 ± 8,26	0,166
SP-D im Serum	asiatisch	138,96 ± 80,75	96,58 ± 28,50	0,513
MMP-8 im Serum	asiatisch	115,17 ± 92,92	37,39 ± 31,98	0,313

Tabelle 15: Mittelwerte und Standardabweichungen von SP-D und MMP-8 im Serum für die Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ in Abhängigkeit von ethnischer Abstammung

In der Expression von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum war in keiner der drei ethnischen Gruppen „kaukasisch“, „arabisch“ und „asiatisch“ ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen „PA-Stadium leicht“ und „PA-Stadium schwer“ festzustellen.

Ein Mehrfachvergleich nach Games-Howell, bei dem die ethnischen Gruppen paarweise verglichen werden, ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich Mittelwerte der Biomarker SP-D im Serum und MMP-8 im Serum (Tab 16).

Mehrfachvergleich		p-Werte	
Gruppe1	Gruppe2	SP-D im Serum	MMP-8 im Serum
kaukasisch	asiatisch	0,983	0,999
	arabisch	0,874	0,368
asiatisch	kaukasisch	0,983	0,999
	arabisch	0,997	0,972

Tabelle 16: p-Werte von SP-D und MMP-8 im Serum beim Mehrfachvergleich von je einer ethnischen Gruppe mit anderen ethnischen Gruppen in Bezug auf die Expression von SP-D und MMP-8 im Serum

Für den Parameter „ethnische Abstammung“ mit den 5 Kategorien „kaukasisch“, „asiatisch“, „afrikanisch“, „arabisch“ und „nicht definiert“ wurde zusätzlich mit einer einfaktoriellen ANOVA untersucht, ob sich die Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für diese Untergruppen signifikant unterscheiden. Dies ist nicht der Fall, da der p-Wert von 0,817 für SP-D im Serum und der p-Wert von 0,680 für MMP-8 im Serum beträgt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei den statistischen Analysen der Mittelwerte und der mittleren Ränge von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die spezifischen Untergruppen in keinem Fall belastbar ein signifikanter Zusammenhang gefunden wurde. Dies bedeutet, dass weder für die gesamte Population noch für die mit Hilfe der unabhängigen Parameter Geschlecht, Rauchverhalten und ethnische Abstammung gebildeten Untergruppen ein signifikanter Unterschied der Expression der Biomarker SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für Patienten mit leichter bzw. schwerer Parodontitis

nachgewiesen werden konnte. Damit kann ausgeschlossen werden, dass die Unterschiede in der Expression von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum bei Patienten mit leichter und schwerer Parodontitis auf Geschlecht, Rauchverhalten oder ethnische Abstammung zurückzuführen sind.

4.7. EINFLUSS DER PARODONTAL PATHOGENEN BAKTERIEN AUF DIE EXPRESSION VON SP-D IM SERUM UND MMP-8 IM SERUM

Mittels einer einfaktoriellen ANOVA wurde die Expression von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum in Abhängigkeit von den sieben parodontal pathogenen Bakterien geprüft. Für diese Tests wurden die Daten von allen 170 Patienten dieser Studie verwendet. Die folgenden Tabellen zeigen nur die Mittelwerte und die p-Werte.

Die Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium AA.

	AA negativ	AA positiv	p-Wert
SP-D im Serum	143,39	125,82	0,342
MMP-8 im Serum	104,96	93,26	0,558

Tabelle 17: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen AA negativ und AA positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen AA nicht nachweisbar war (143,39 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von AA (125,82 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,342$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen keine Infektion durch AA nachweisbar war (104,96 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von AA (93,26 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,558$).

Die Tabelle 18 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium PG.

	PG negativ	PG positiv	p-Wert
SP-D im Serum	140,45	139,94	0,975
MMP-8 im Serum	108,93	100,19	0,610

Tabelle 18: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen PG negativ und PG positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen PG nicht nachweisbar war (140,45 ng/mL), ist ähnlich dem Wert bei den Patienten mit positivem

Nachweis von PG (139,94 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,975$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen PG nicht nachweisbar war (108,93 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von PG (100,19 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,610$).

Die Tabelle 19 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium FN.

	FN negativ	FN positiv	p-Wert
SP-D im Serum	137,75	140,90	0,849
MMP-8 im Serum	97,99	104,43	0,718

Tabelle 19: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen FN negativ und FN positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen FN nicht nachweisbar war (137,75 ng/mL), ist nur geringfügig kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von FN (140,90 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,849$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen FN nicht nachweisbar war (97,99 ng/mL), ist nur geringfügig kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von FN (104,43 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,718$).

Die Tabelle 20 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium PI.

	PI negativ	PI positiv	p-Wert
SP-D im Serum	139,50	141,87	0,888
MMP-8 im Serum	104,75	96,69	0,656

Tabelle 20: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen PI negativ und PI positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen PI nicht nachweisbar war (139,75 ng/mL), ist nur geringfügig kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von PI (141,87 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,888$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen PI nicht nachweisbar war (104,75 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von PI (96,69 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,656$).

Die Tabelle 21 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium TF.

	TF negativ	TF positiv	p-Wert
SP-D im Serum	142,34	134,69	0,630
MMP-8 im Serum	94,11	123,51	0,085

Tabelle 21: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen TF negativ und TF positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen TF nicht nachweisbar war (142,34 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von TF (134,69 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,630$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen TF nicht nachweisbar war (94,11 ng/mL), ist kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von TF (123,51 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,085$).

Die Tabelle 22 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium PM.

	PM negativ	PM positiv	p-Wert
SP-D im Serum	144,16	133,99	0,491
MMP-8 im Serum	110,72	90,82	0,211

Tabelle 22: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen PM negativ und PM positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen PM nicht nachweisbar war (144,16 ng/mL), ist größer als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von PM (133,99 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,491$).

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen PM nicht nachweisbar war (110,72 ng/mL), ist kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von PM (90,82 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,211$).

Die Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse für das Bakterium TD.

	Bakterium	TD negativ	TD positiv	p-Wert
SP-D im Serum	TD	116,80	157,61	0,005
MMP-8 im Serum	TD	99,42	105,27	0,711

Tabelle 23: Vergleich der Mittelwerte von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum für die Gruppen TD negativ und TD positiv

Der Mittelwert der Expression von SP-D im Serum von Patienten, bei denen TD nicht nachweisbar war (116,80 ng/mL), ist wesentlich kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von TD (157,61 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass diese Unterschiede signifikant sind ($p=0,005$) und die Expression von SP-D im Serum mit dem Nachweis des parodontal pathogenen Bakteriums TD im Speichel korreliert ist. Der Mann-Whitney Test bestätigt dieses Ergebnis mit einem p-Wert von 0,008.

Der Mittelwert der Expression von MMP-8 im Serum von Patienten, bei denen TD nicht nachweisbar war (99,42 ng/mL), ist kleiner als der Wert bei den Patienten mit positivem Nachweis von TD (105,27 ng/mL). Die statistische Analyse hat ergeben, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p=0,711$).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Expression von SP-D im Serum in Abhängigkeit von den Bakteriengruppen „positiv“ und „negativ“ für das Bakterium TD einen signifikanten Zusammenhang aufweist. In allen anderen Fällen zeigt die statistische Analyse keine signifikanten Unterschiede. Für die Expression von MMP-8 im Serum in Abhängigkeit von den Bakteriengruppen „positiv“ und „negativ“ zeigte die statistische Analyse keine signifikanten Unterschiede.

4.8. MULTIVARIATE STATISTISCHE ANALYSEN

Lineare Regression

Mit Hilfe einer linearen Regression wurde untersucht, ob ein signifikanter Zusammenhang besteht zwischen dem Parodontitisstadium als abhängigem Parameter und den Parametern SP-D im Serum, MMP-8 im Serum, Geschlecht, ethnische Abstammung, Rauchen, Alter des Patienten und den parodontal pathogenen Bakterien AA, PG, FN, PI, TF, PM und TD als unabhängige Parameter.

Die Analyse ergab ein R-Quadrat von 0,123, d.h. das aufgestellte Modell erklärte nur 12,3 % der Varianz. Die zugehörige ANOVA dazu ergab einen p-Wert von 0,189. Das Modell als Ganzes ist also nicht signifikant. Auch für die einzelnen Koeffizienten wurden mit Ausnahme des Parameters „Rauchen“ ($p<0.0001$) keine signifikanten Zusammenhänge gefunden. Die Tabelle 24 zeigt die Regressionskoeffizienten und die zugehörigen p-Werte. Bis auf die Modellkonstante b_0 und den Koeffizienten des Parameters „Rauchen“ waren die Koeffizienten praktisch gleich Null, d.h. sie haben einen vernachlässigbaren Einfluss auf das Ergebnis, und der zugehörige p-Wert war sehr groß, d.h. dieser Befund ist sehr unsicher.

	Regressionskoeffizient	p-Wert
Konstante b_0	0,447	0,283
Geschlecht	0,030	0,697
ethnische Abstammung	-0,028	0,442
Rauchen	0,325	0,000
Alter des Patienten	0,004	0,320
AA	-0,030	0,764
PG	-0,011	0,906
FN	0,072	0,466
PI	0,031	0,746
TF	-0,099	0,325
PM	0,073	0,442
TD	0,062	0,489
SP-D Serum	0,000	0,562
MMP-8 Serum	0,000	0,924

Tabelle 24: Regressionskoeffizienten und p-Wert der linearen Regressionsanalyse

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Regressionsanalyse keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Biomarkern und dem Parodontitisstadium zeigt.

Spearman-Rho Korrelationsanalyse

In die Spearman-Rho Korrelationsanalyse wurden die 17 Parameter Geschlecht, ethnische Abstammung, Rauchen, Alter des Patienten, Anzahl der Zähne, Knochenverlust, Parodontitisstadium, AA, PG, FN, PI, TF, PM, TD, SP-D im Serum und MMP-8 im Serum einbezogen.

Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse. Der Übersichtlichkeit halber wurden alle Korrelationskoeffizienten mit einem signifikanten p-Wert zwischen 0,05 und 0,01 gelb und die mit einem sehr signifikanten p-Wert $\leq 0,01$ grün markiert. Ein wesentliches Resultat der Korrelationsanalyse ist, dass der Biomarker MMP-8 im Serum mit keinem anderen Parameter signifikant korreliert ist. Die Ergebnisse für MMP-8 im Serum wurden deshalb in den Tabellen nicht aufgeführt.

	PA-Stadium	Ge-schlecht	Ethnische Abstammung	Rauchen	Alter des Pat. bei Röntgen-Aufnahme	Knochenverlust	Vorhandene Zähne (Anzahl)	SP-D im Serum ng/mL
PA-Stadium	1	0,024	-0,081	0,295	0,009	0,67	-0,267	0,054
Geschlecht	0,024	1	0,036	0,028	-0,235	0,02	0,159	-0,047
Ethnische Abstammung	-0,081	0,036	1	0,036	-0,317	-0,091	0,194	-0,064
Rauchen	0,295	0,028	0,036	1	-0,177	0,261	-0,078	0,237
Alter des Pat. bei Röntgen-Aufnahme	0,009	-0,235	-0,317	-0,177	1	0,084	-0,295	-0,055
Knochenverlust	0,67	0,02	-0,091	0,261	0,084	1	-0,251	0
Vorhandene Zähne (Anzahl)	-0,267	0,159	0,194	-0,078	-0,295	-0,251	1	-0,207
SP-D im Serum ng/mL	0,054	-0,047	-0,064	0,237	-0,055	0	-0,207	1

Tabelle 25: Ergebnisse der Korrelationsanalyse, Teil 1

Zusammenhang zwischen den allgemeinen Parametern Geschlecht, ethnische Abstammung, Rauchen, Alter des Patienten, Anzahl der Zähne, Knochenverlust, Parodontitisstadium und SP-D im Serum

Die Tabelle 25 zeigt zehn hoch signifikante und drei signifikante Korrelationen zwischen den allgemeinen Parametern und den parodontal pathogenen Bakterien. Aus der Tabelle 25 ist zu ersehen, wie stark die allgemeinen Parameter Geschlecht, ethnische Abstammung, Rauchen, Alter des Patienten, Anzahl der Zähne, Knochenverlust, Parodontitisstadium und SP-D im Serum untereinander korreliert sind.

Von den zehn hoch signifikanten Korrelationen hat die Korrelation von Parodontitisstadium und Knochenverlust den größten Koeffizienten mit 0,670 ($p=0,000$). Für die Korrelation zwischen ethnischer Abstammung und Alter wurde ein Koeffizient von -0,317 ($p=0,000$) ermittelt. Zwischen Parodontitisstadium und Rauchen betrug der Korrelationskoeffizient 0,295 ($p=0,000$). Für die Anzahl der Zähne und das Parodontitisstadium wurde eine Korrelation mit einem Koeffizienten von -0,267 ($p=0,001$) nachgewiesen. Zwischen Rauchen und SP-D im Serum ergab sich ein Koeffizient von 0,237 ($p=0,002$) errechnet. Für die Korrelation zwischen Geschlecht und Alter wurde ein Koeffizient von -0,235 ($p=0,003$) ermittelt. Den niedrigsten Koeffizienten unter den hoch signifikanten Korrelationen hat SP-D im Serum und vorhandene Zähne mit -0,207 ($p=0,008$).

Von den drei signifikanten Korrelationen hatte die Korrelation zwischen ethnischer Abstammung und Anzahl der Zähne mit einem Korrelationskoeffizienten 0,194 ($p=0,014$) den höchsten Wert.

Für die Korrelation von Alter und Rauchen wurde ein Koeffizient von -0,177 ($p=0,025$) ermittelt. Für Geschlecht und Anzahl der Zähne wurde eine Korrelation mit einem Koeffizienten von 0,159 ($p=0,043$) nachgewiesen.

Somit ergibt sich für die hoch signifikanten Korrelationen, dass der Parameter Anzahl vorhandene Zähne mit 6 weiteren der obigen Parameter korreliert ist, Rauchen mit vier weiteren, ebenso das Alter des Patienten. Das Parodontitisstadium ist mit drei weiteren korreliert. Geschlecht, ethnische Abstammung und SP-D im Serum sind jeweils mit zwei anderen korreliert. Bei den signifikanten Korrelationen wurden für den Parameter vorhandene Zähne zwei Korrelationen nachgewiesen und für Geschlecht und ethnische Abstammung jeweils eine.

Bakterium	PA-Stadium	Geschlecht	Ethnische Abstammung	Rauchen	Alter des Pat. bei Röntgen-Aufnahme	Knochenverlust	Vorhandene Zähne (Anzahl)	SP-D im Serum ng/mL
AA	-0,024	0,051	0,18	0,023	-0,098	-0,141	0,133	-0,01
PG	-0,003	-0,024	0,037	-0,082	0,029	0,042	-0,055	0,022
FN	0,075	-0,005	0,06	-0,028	0,014	0,054	-0,04	0,037
PI	0,044	0,062	0,037	0,027	0,049	-0,007	-0,06	-0,051
TF	-0,007	0,05	0,151	0,108	-0,087	0,035	0,009	-0,032
PM	0,005	0,005	0,154	-0,034	0,08	-0,028	-0,063	-0,032
TD	0,022	0,036	0,048	0,042	-0,138	-0,119	0,067	0,204

Tabelle 26: Ergebnisse der Korrelationsanalyse, Teil 2

Zusammenhang zwischen den allgemeinen Parametern Geschlecht, ethnische Abstammung, Rauchen, Alter des Patienten, Anzahl der Zähne, Knochenverlust, Parodontitisstadium, SP-D im Serum und den parodontal pathogenen Bakterien AA, PG, FN, PI, TF, PM und TD

Die Tabelle 26 zeigt nur eine sehr signifikante und drei signifikante Korrelationen. Die sehr signifikante Korrelation ist die Korrelation von SP-D im Serum und dem parodontal pathogenen Bakterium TD mit einem Koeffizienten von 0,204 ($p=0,008$). Für die ethnische Abstammung wurden drei signifikante Korrelationen ermittelt. Die Analyse ergab für die ethnische Abstammung und das Bakterium AA einen Koeffizienten von 0,180 ($p=0,019$). Für die ethnische Abstammung und das Bakterium PM wurde ein Koeffizient von 0,154 ($p=0,045$) berechnet. Der Koeffizient für die ethnische Abstammung und das Bakterium TF betrug 0,151 ($p=0,049$).

Die Tabelle 27 zeigt die Korrelationskoeffizienten für die parodontal pathogenen Bakterien untereinander.

	AA	FN	PI	PM	TF	TD	PG
AA	1	0,181	0,073	0,098	0,019	0,083	0,047
FN	0,181	1	0,121	0,126	-0,031	0,22	0,355
PI	0,073	0,121	1	0,173	0,289	0,332	0,13
PM	0,098	0,126	0,173	1	0,343	0,005	0,026
TF	0,019	-0,031	0,289	0,343	1	0,273	0,077
TD	0,083	0,22	0,332	0,005	0,273	1	0,249
PG	0,047	0,355	0,13	0,026	0,077	0,249	1

Tabelle 27: Korrelationskoeffizienten für die Bakterien, Die Farben markieren den orange und den roten Komplex nach Socransky.

Aus der Tabelle 27 ist zu ersehen, dass jedes Bakterium mindestens mit einem weiteren korreliert war. Die meisten Korrelationen wies das Bakterium TD auf, das mit allen anderen außer AA und PM korrelierte.

Die Tabelle zeigt sechs sehr signifikante Korrelationen. Dies sind die Korrelation zwischen FN und PG mit einem Koeffizienten von 0,355 ($p=0,000$), die zwischen PM und TF mit einem Koeffizienten von 0,343 ($p=0,000$), die zwischen PI und TD mit einem Koeffizienten von 0,332 ($p=0,000$), die zwischen PI und TF mit einem Koeffizienten von 0,289 ($p=0,000$), die zwischen TF und TD mit einem Koeffizienten von 0,273 ($p=0,000$) und die zwischen TD und PG mit einem Koeffizienten von 0,249 ($p=0,001$). Die Tabelle enthält zwei weitere signifikante Korrelationen und zwar die zwischen AA und FN mit einem Koeffizienten von 0,181 ($p=0,018$) und die zwischen PI und PM mit einem Koeffizienten von 0,173 ($p=0,024$).

Die Tabelle zeigt auch, dass in fünf Fällen Bakterien des orangen Komplexes nach Socransky hoch signifikant mit Bakterien des roten Komplexes korreliert sind, d.h. in dieser Studie wurde gemessen, dass Bakterien des orangen Komplexes gleichzeitig mit Bakterien des roten Komplexes auftreten.

Der Parameter Parodontitisstadium wies außer der starken Korrelation mit Knochenverlust noch schwache Korrelationen mit dem Rauchen und der Anzahl der Zähne auf. Er war aber weder mit einem der beiden Biomarker noch mit einem der parodontal pathogenen Bakterien signifikant korreliert.

Die Tabelle 28 zeigt die hoch signifikanten Ergebnisse für das Parodontitisstadium im Detail.

Parameter	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Knochenverlust	0,670	0,000
Rauchen	0,295	0,000
Vorhandene Zähne	-0,267	0,001

Tabelle 28: Die signifikanten Ergebnisse der Korrelationsanalyse für das Parodontitisstadium

Der Biomarker SP-D im Serum wies drei sehr signifikante aber nur schwache Korrelationen auf mit den Parametern Rauchen, Anzahl der Zähne und dem Bakterium TD.

Der Biomarker MMP-8 im Serum wies keine signifikanten Korrelationen auf.

Die Tabelle 29 zeigt die Auswahl der signifikanten Ergebnisse der Korrelationsanalyse für die Biomarker.

Biomarker	Parameter	Korrelationskoeffizient	p-Wert
SP-D im Serum	Rauchen	0,237	0,002
SP-D im Serum	Vorhandene Zähne	-0,207	0,008
SP-D im Serum	Bakterium TD	0,204	0,008

Tabelle 29: Die signifikanten Ergebnisse der Korrelationsanalyse für die Biomarker

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der Korrelationsanalyse drei hoch signifikante aber nur schwache Korrelationen für den Biomarker SP-D im Serum und keine signifikanten Korrelationen für den Biomarker MMP-8 im Serum gefunden wurden. Signifikante Korrelationen zwischen dem Parodontitisstadium und den parodontal pathogenen Bakterien wurden nicht gefunden. Außerdem wurden erwartungsgemäß für das Parodontitisstadium signifikante Korrelationen mit den Parametern Rauchen, Knochenverlust und Anzahl der Zähne gefunden. Mit Hilfe dieser Korrelationsanalyse konnte gezeigt werden, dass drei unabhängige Variable Einfluss auf den Biomarker SP-D im Serum haben, aber es konnte nicht gezeigt werden, dass die Konzentrationen der Biomarker mit dem Parodontitisstadium korreliert sind und es möglich ist, mithilfe der Biomarker zwischen leichter und schwerer Parodontitis zu differenzieren.

5. DISKUSSION

5.1. METHODIK

Auswahl der Studienpopulation

Die Parodontitis ist eine Entzündung des Zahnhalteapparates. Die Parodontitis kann an einem, mehreren oder allen Zähnen auftreten, wobei das Ausmaß der Entzündung von Zahn zu Zahn variieren kann. Das größte Problem besteht in einer einfachen und robusten Definition der Parodontitis und des klinischen Stadiums. Eine einheitliche Definition existierte bis zum Ende dieser Studie auf dem Gebiet der parodontalen Epidemiologie in der nationalen und internationalen Forschungsliteratur nicht¹¹². Erst nach Ende dieser Studie wurde 2018 von EFP und AAP eine einheitliche Klassifikation veröffentlicht¹¹³.

Parodontitis-Stadium		Stadium I	Stadium II	Stadium III	Stadium IV
Schwere	interdentaler CAL an Stelle mit höchstem Verlust	1 - 2 mm	3 -4 mm	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	röntgeno- logischer Knochen- abbau	koronales Drittel (< 15%)	koronales Drittel (15 - 33%)	bis ins mittlere oder apiale Wurzeldrittel	bis ins mittlere oder apiale Wurzeldrittel
	Zahnverlust	kein Zahnverlust aufgrund von Parodontitis		Zahnverlust aufgrund von Parodontitis von ≤ 4 Zähnen	Zahnverlust aufgrund von Parodontitis von ≥ 5 Zähnen

Tabelle 30: Neue Definition der Stadien der Parodontitis von 2018

In dieser Studie wurde die alte Klassifikation der Parodontitis aus dem Jahr 1999 verwendet, bei der die Kriterien für Parodontitis sind: Taschentiefe ≥ 3 mm, Blutung bei Sondierung, mindestens 2 mm Knochenverlust im Röntgenbild und mindestens 1 mm klinischer Attachmentverlust (CAL).

Je nachdem wie die Veränderungen fortgeschritten sind, wird die Parodontitis in die Schweregrade leicht, mittel und schwer (fortgeschritten) eingeteilt. Leider verwenden viele Studien unterschiedliche Fortschritte der Schweregrade¹¹⁴ oder andere und zum Teil auch komplexere Definitionen, zum Beispiel in der Arbeit von Glas et al³². Sie benutzt als

Parameter die Zahl der befallenen Zähne (> 8 Zähne) oder alternativ den Furkationsbefall (\geq Klasse II) oder die radiologische Distanz zwischen Limbus alveolaris und der Schmelz-Zementgrenze (≥ 3 mm). Neuere Studien schlagen bis zu sieben verschiedene Parameter vor¹¹⁵: Zahnstatus (Vorhandensein oder Fehlen), prothetische Kronen (Vorhandensein oder Fehlen), interproximaler Attachmentverlust ≥ 3 mm, Taschentiefe ≥ 4 mm, gingivaler Index, Plaqueindex und Blutung auf Sondierung.

Derartige Unterschiede bei der Definition führen dazu, dass man diese Studien aufgrund der unterschiedlichen Definitionen nicht direkt vergleichen kann und somit die Wahl der Definition erheblichen Einfluss auf die Ergebnisse bei der Suche nach geeigneten Biomarkern hat.

Kaum eine Parodontitis ist aber gleichmäßig und weitgehend generalisiert fortgeschritten. Vielmehr finden sich an einzelnen Zähnen starke pathologische Veränderungen, an anderen leichtere und an wieder anderen noch gar keine Krankheitszeichen. In der alten (1999) und in der neuen (2017) Klassifikation ist die generalisierte Parodontitis als die Erkrankung von mehr als 30% der Zähne definiert. Klinisch findet sich eher eine generalisierte als eine lokalisierte Form der Parodontitis¹¹⁶.

Wegen der Komplexität des Krankheitsbildes der Parodontitis besteht das Problem darin, alle Aspekte in einer Definition so zusammenzufassen, wie sich diese Aspekte vermutlich auf die Höhe eines potentiellen Biomarkers auswirken.

Üblicherweise werden zur Bewertung der Parodontitis ein oder mehrere der klinischen Leitsymptome Zahntaschentiefe, klinischer Attachmentverlust und Knochenverlust verwendet¹¹⁷, aber nicht die Anzahl der betroffenen Zähne und der Fortschritt der Parodontitis.

Im Jahr 2010 werteten Leroy et al¹¹⁸ die Definitionen der Parodontitis in epidemiologischen Studien aus und empfahlen daraufhin, dass drei typische klinische Symptome für die Definition der Schwere der Parodontitis verwendet werden sollten: klinischer Attachmentverlust, Taschentiefe und Blutung bei Sondierung.

In einer aktuellen Studie schlagen Pei et al¹¹⁹ als Grenzwerte für eine Definition mit diesen drei Parametern als Kriterien für schwere Parodontitis vor: mehr als zwei Stellen mit PD ≥ 4 mm, CAL ≥ 2 mm und positive BOP (BOP+).

Die drei Parameter werden benötigt, um mögliche Fehlereinflüsse effektiv zu reduzieren. Die Messung der Taschentiefe allein kann dazu führen, dass Pseudo-Taschen falsch als parodontale Taschen klassifiziert werden oder aufgrund des durch die Parodontitis weichen Bodens der Tasche diese Messung zu groß ausfällt. Der klinische Attachmentverlust gibt den akkumulierten parodontalen Schaden wieder und Schäden aufgrund mechanischer Belastung ohne Entzündung (z.B. Zahnputztraumen) können fälschlicherweise als Folgen von Parodontitis eingestuft werden. Der dritte Parameter BOP hilft somit Fehlbewertungen zu vermeiden.

Um diese Probleme für unsere Studie angemessen zu berücksichtigen, wurde ein anderes Kriterium für die Einteilung in die zwei Gruppen gewählt: In die Gruppe „schwer“ wurden alle Patienten eingeordnet, bei denen an mindestens sieben Zähnen ein Knochenverlust von

>50% im Röntgenbild vorlag und alle übrigen Patienten wurden in die Gruppe „leicht - mäßig“ eingestuft. Die röntgenologische Ermittlung des Knochenverlusts, die in dieser Studie verwendet wurde, ist eine sehr zuverlässige und leicht anzuwendende Methode, aber sie hat die Einschränkung, dass das Röntgenbild nur ein zweidimensionales Abbild eines dreidimensionalen Befundes darstellt¹¹⁸.

Durch die Wahl des Kriteriums „Knochenverlust von >50% an mindestens sieben Zähnen“ wird sichergestellt, dass zum einen die Patienten in der Gruppe „schwer“ an einem ausgedehnten Befall der Parodontitis leiden und nicht nur ein oder wenige Zähne betroffen sind und zum anderen dass bei diesen Patienten die Parodontitis bereits zu einem erheblichen Knochenverlust (> 50%) an vielen Zähnen geführt hat. Dieses Kriterium berücksichtigt so das Ausmaß und die Dauer der Erkrankung.

Der Risikofaktor „Rauchen“ wurde ebenfalls zur Gruppeneinteilung verwendet. Verschiedene Veröffentlichungen^{87,120,121} zeigen die Bedeutung des Risikofaktors Rauchen bei der Entstehung der Parodontitis.

In unserer Studie betrug das Verhältnis von leichter zu schwerer Parodontitis bei Nichtrauchern 2:1 und bei Rauchern 1:2. Dies steht in guter Übereinstimmung mit einer ähnlichen Studie aus Deutschland¹²², die bei vergleichbaren Kriterien und einer Gruppeneinteilung in Nichtraucher, Ex-Raucher und Raucher folgende Verhältnisse findet: Bei Nichtrauchern beträgt das Verhältnis von leichter zu schwerer Parodontitis in etwa 2:1, bei Ex-Rauchern 1:1 und bei Rauchern 1:2. Obwohl die Untersuchung dieses Aspekts nicht Ziel der vorliegenden Studie war, bestätigen diese Daten deutlich, dass Rauchen ein Risikofaktor für schwere Parodontitis ist.

Weitere Risikofaktoren, die in dieser Studie für alle Patienten ermittelt wurden, sind die parodontal pathogenen Bakterien. Obwohl bei Parodontitis in der subgingivalen Mikroflora Hunderte von Bakterientypen nachgewiesen werden können, wurden bislang nur wenige mit dem Fortschreiten der Parodontitis in Verbindung gebracht und kommen als möglicher Risikofaktor in Frage. In einer Studie zu Parodontitis-Risikofaktoren von 2014¹²³ werden davon nur sechs Bakterientypen identifiziert, die zum Parodontitisrisiko beitragen.

PG¹²⁴ und AA^{125,126} tragen signifikant zum Entstehen der Parodontitis bei Erwachsenen bei. Außerdem ist das Auftreten von TF¹²⁷, PI¹²⁶, PM¹²⁸, und FN¹²⁹ stark verknüpft mit dem Fortschreiten der Parodontitis bei Erwachsenen.

Zusätzlich wurde auch das Bakterium *Treponema denticola* TD in dieser Studie berücksichtigt, da es mit FN und PG koaggregiert und dies einen entscheidenden Faktor für die Biofilmbildung und dessen Pathogenität darstellt¹¹.

In unserer Studie wurden zum Nachweis dieser sieben Bakterien Proben aus den Parodontaltaschen entnommen. Die Analyse zum Nachweis von bakterieller DNA stellt eine einfache nicht-invasive Methode dar¹³⁰. Herrera et al¹³¹ fanden in einer ländervergleichenden Studie zum Auftreten von parodontal pathogenen Bakterien an von Parodontitis befallenen Stellen erhebliche Unterschiede zwischen Patienten aus Spanien, Chile und Kolumbien. Das Auswahlkriterium war PD>5 mm, CAL>5mm und BOP+. Der Nachweis der Bakterien erfolgte durch mikrobiologische Kultur.

Für die Bakterien AA und PG unterscheiden sich die Werte zwischen den Ländern nur geringfügig, für AA und PG betragen die Standardabweichungen der Mittelwerte weniger als 10%. Für die Bakterien PI und PM zeigen die Werte große Unterschiede zwischen den einzelnen Ländern. Die Standardabweichungen der Mittelwerte liegen bei 60%. Dazwischen liegen die Werte für die Bakterien TF und FN. (Tab. 31). Die Werte aus unserer Studie liegen im Vergleich immer im Mittelfeld zwischen den Extremwerten.

Bakterium	Anteil % nachgewiesen			
	unsere Studie	Spanien	Chile	Kolumbien
AA	18,8	16,7	19,4	17,1
PG	70,6	77,8	83,8	65,9
FN	74,1	100,0	63,9	82,9
PI	24,7	97,2	19,4	72,5
TF	29,4	36,1	16,2	39,0
PM	40,0	61,1	29,7	2,4
TD	57,1			

Tabelle 31: Vergleich der Häufigkeit des Nachweises der parodontal pathogenen Bakterien in dieser Studie mit den Daten von Herrera et al

Silva et al¹³² vergleicht die Nachweishäufigkeit für AA, PG und TF bei Patienten mit Parodontitis aus verschiedenen Studien und findet eine große Schwankungsbreite der dort angegebenen Werte. Dabei zeigt es sich, dass die Werte, die durch PCR ermittelt wurden, signifikant höher sind als die anhand mikrobiologischer Kulturen ermittelten Werte.

Diese Zahlen zeigen, dass es keinen einfachen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Parodontitis und dem Nachweis der parodontal pathogenen Bakterien gibt.

Ermittlung der SP-D und MMP-8 Konzentrationen im Serum mittels ELISA

Zum Nachweis von SP-D und MMP-8 im Serum wurde in dieser Studie die Methode des Sandwich-ELISA eingesetzt. Diese Methode ist weniger arbeitsintensiv und preiswerter als andere Nachweismethoden wie Immunofluorometric Assay (IFMA) oder Immunoblotting und deshalb für umfangreiche Studien mit vielen Patienten besser geeignet. Es existieren zahlreiche Veröffentlichungen^{133–135} in denen die verschiedenen Nachweisverfahren verglichen werden mit dem Ergebnis, dass Spezifität und Sensitivität der ELISA ähnlich sind wie bei den anderen Verfahren. Bei diesen Studien wird allerdings nicht die Eignung zum Nachweis von SP-D im Serum oder MMP-8 im Serum untersucht. Für die Messung der Expression von MMP-8 im Serum zeigt eine aktuelle Studie^{136,137}, dass der dentoELISA von BioVendor genauso sensitiv und spezifisch ist, wie ein aufwändiger immunofluorometischer Assay (IFMA) und gemessene Werte korreliert sind. Es wurde keine Studie gefunden, in der die Nachweismethoden für SP-D im Serum verglichen werden.

Eine Studie¹³⁸ von 2014 kommt jedoch zum Schluss, dass sich die mit den ELISA-Kits unterschiedlicher Hersteller gemessenen Werte von SP-D erheblich unterscheiden können. Deshalb werden im Folgenden nur Werte diskutiert, die mit dem aktuellen ELISA-Kit von BioVendor gemessen wurden.

Es wurden mehrere Studien^{158,159,160,161} ermittelt, die SP-D Werte im Serum für schwer kranke oder schwer verletzte Patienten mit dem ELISA Kit von BioVendor untersucht wurden. Dabei wurde für die gesunde Kontrollgruppe gefunden, dass die Werte erheblich streuen. Sie liegen überwiegend im unteren Teil des in dieser Studie für an Parodontitis erkrankte Patienten gemessenen Interquartilsabstands. Die Mittelwerte für die gesunden Kontrollgruppen sind deutlich niedriger als der Mittelwert dieser Studie, aber die Interquartilsabstände überlappen sich stark, so dass es nicht möglich ist, anhand der SP-D Expressionen zwischen den gesamten Patienten und den an Parodontitis erkrankten Patienten unserer Studie zu differenzieren.

Es wurden zwei aktuelle Studien^{164,165} gefunden, bei denen SP-D Werte im Serum bei Vorliegen von Parodontitis untersucht wurden. In diesen Studien differieren die für die gesunden Kontrollgruppen ermittelten Werte erheblich. Sie liegen überwiegend im unteren Teil der in unserer Studie für an Parodontitis erkrankten Patienten gemessenen Interquartilsabstände. Die Mittelwerte für die Kontrollgruppen sind deutlich niedriger als der Mittelwert unserer Studie, aber die Interquartilsabstände überlappen sich auch hier stark, so dass nicht möglich ist, anhand der SP-D Expressionen zwischen Patienten ohne und mit Parodontitis zu differenzieren.

Eine aktuelle Studie von 2017¹³⁹ ermittelt MMP-8 Werte im Serum für eine Gruppe von an Parodontitis erkrankten Patienten. Der Mittelwert, der Median und der Interquartilsabstand aus dieser Studie sind ähnlich den in unserer Studie gefundenen Werten und somit eine Bestätigung der in dieser Studie gemessenen Werte.

Die starken Unterschiede in den Werten der Biomarker für die Kontrollgruppen deuten darauf hin, dass bei der Auswahl der Kontrollgruppe möglicherweise nicht alle für die Biomarker relevanten Faktoren ausgeschlossen wurden und dadurch Patienten mit aus anderen Gründen erhöhten MMP-8 Werten, z.B. aufgrund von systemischen Krankheiten, in die Kontrollgruppen aufgenommen wurden.

5.2. BEWERTUNG DER ERGEBNISSE

Bewertung der Ergebnisse für die Bakterien

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass der Nachweis der parodontal pathogenen Bakterien AA, PG, FN, PI, TF, PM und TD nicht zu signifikanten Unterschieden in der Expression der Biomarker zwischen den Gruppen Parodontitisstadium „leicht“ und „schwer“ führt und dass das Auftreten dieser Bakterien nicht mit der Expression der Biomarker im Serum korreliert. Es konnte lediglich eine schwach signifikante Korrelation von SP-D im Serum und dem Bakterium TD gezeigt werden.

Eine systematische Literaturrecherche in der Medline-Literaturdatenbank der U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) mit den Stichworten „SP-D“, „MMP-8“ und einem der sieben Bakterien ergab folgende Treffer:

Bakterium	Stichwort \ Biomarker	SP-D	MMP-8
Aggregatibacter actinomycetemcomitans (AA)	actinomycetemcomitans	0	14
Porphyromonas gingivalis (PG)	gingivalis	0	33
Fusobacterium nucleatum (FN)	nucleatum	0	6
Prevotella intermedia (PI)	intermedia	0	10
Tannerella forsythia (TF)	forsythia	0	9
Parvimonas micra (PM)	micra	0	0
Treponema denticola (TD)	denticola	0	13

Tabelle 32: Anzahl der Veröffentlichungen in der Medline-Suchmaschine

Eine Auswertung der Artikel zeigt, dass zum Zusammenhang des Vorkommens der parodontal pathogenen Bakterien im Speichel und der Expression der Biomarker SP-D und MMP-8 im Serum keine Untersuchungen vorliegen. Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, die SP-D im Serum mit dem Bakterium TD in Zusammenhang bringt.

Es wurde gezeigt, dass SP-D bei der Immunabwehr in der Mundhöhle auftritt und dabei von großer Bedeutung ist¹³⁴. Die Mundhöhle ist als ein offenes System ständig einer Vielzahl von mikrobiologischen pathogenen Einflüssen ausgesetzt, die zu einer permanenten Entzündung führen würden, wenn nicht ein effektives Immunsystem sie abwehren würde. Ein wesentlicher Teil dieses Abwehrsystems sind die Surfactant Proteine, insbesondere SP-D, die nicht nur einen wichtigen Faktor dieses Immunsystems darstellen sondern auch die Stabilität der alveolären Gas-Flüssigkeit-Grenzfläche beeinflussen. Entzündliche Prozesse in der Gingiva erhöhen die Expression von SP-D^{74,168}.

Es liegen zwar keine Studien vor, die den Biomarker SP-D im Speichel mit den parodontal pathogenen Bakterien in Verbindung bringen, jedoch gibt es zahlreiche Studien, in denen die Assoziation des Biomarkers MMP-8 im Speichel mit den parodontal pathogenen Bakterien untersucht wird. Wegen der engen Verbindung von Blutkreislauf und Speichel ist zu erwarten, dass MMP-8 im Serum sich analog zu MMP-8 im Speichel verhält und die Erkenntnisse zu der Assoziation von MMP-8 im Speichel mit den parodontal pathogenen Bakterien Hinweise darauf geben, bei welchen der Bakterien mit höherer Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang mit MMP-8 im Serum zu erwarten ist.

In einer Studie, die eine kumulative Risikobewertung (CRS) zur Parodontitisdiagnose vorschlägt, wird gezeigt, dass eine hohe Expression der Biomarker MMP-8 und IL-1 β und eine nachweisbare Infektion durch PG assoziiert ist mit tiefen parodontalen Taschen und alveolärem Knochenabbau. Eine Kombination aus diesen drei Parametern ist stärker mit Parodontitis assoziiert als jeder Parameter für sich allein¹⁴².

In einer Studie zur Wirkung von Azithromycin bei der Behandlung der aggressiven Parodontitis werden die klinischen Parameter, der Biomarker MMP-8 im Speichel und die Bakterien AA, PG, FN und PI, vor der Behandlung und 6 Monate nach der Behandlung

gemessen. Die Bakterien und die Expression des Biomarkers verbesserten sich in diesem Zeitraum signifikant für die Testgruppe und die Placebogruppe gleichermaßen¹⁴³.

In einer anderen Studie wurde untersucht, ob bei Parodontitis der Biomarker MMP-8 mit den Bakterien AA, PG, PI, TF und TD assoziiert ist. Der Vergleich mit einer Kontrollgruppe zeigt, dass als Antwort auf die Anwesenheit von TD eine erhöhte Freisetzung von MMP-8 erfolgt¹⁴⁴.

Zum Zusammenhang des Vorkommens der parodontal pathogenen Bakterien im Speichel und der Expression der Biomarker SP-D und MMP-8 im Serum und zur Nutzung dieses Zusammenhangs zu Verbesserungen in der Parodontitisdiagnose liegen keine Untersuchungen vor.

Alle hier genannten parodontal pathogenen Bakterien außer *Campylobacter rectus* wurden im Rahmen dieser Studie untersucht. Ein Zusammenhang mit den Biomarkern, aus dem auf die Schwere der Parodontitis geschlossen werden könnte, wurde nicht gefunden.

Bewertung der Ergebnisse zu SP-D

Grundsätzlich steht fest, dass SP-D bei der Immunabwehr in der Mundhöhle auftritt und eine wesentliche Rolle spielt¹⁴⁵. In einer Studie¹⁴⁶ wird gezeigt, dass von den vier „Surfactant Proteins“ SP-D als Biomarker am besten geeignet ist, da sich hier die Werte für Gesunde und Kranke deutlich unterscheiden. Gemessen wurden hier SP-D Konzentrationen im Speichel, die in demselben Bereich liegen wie die Konzentrationen im Serum in dieser Studie. Für Gesunde lagen die Konzentrationen zwischen 50ng/ml und 200ng/ml und für Kranke zwischen 200 und 1100 ng/mL.

Über SP-D im Speichel als Biomarker für die Parodontitis liegen unterschiedliche Erkenntnisse vor. Während einige Studien zeigen, dass die SP-D Werte bei der Parodontitis signifikant erhöht sind¹⁴⁰, wird in anderen Studien kein signifikanter Zusammenhang beobachtet¹⁴⁷. Der Unterschied zwischen beiden Studien besteht darin, dass die erste Studie ein Patientenkollektiv mit 40 gesunden und mit 40 Patienten mit Gingivitis betrachtet (also keine Parodontitis), während der zweiten Studie das Patientenkollektiv dieser Doktorarbeit, also 106 Patienten mit leichter - mäßiger und 56 mit schwerer Parodontitis zugrunde liegt.

In beiden Studien bewirken Gingivitis und Parodontitis höhere und stärker streuende Werte, die sich in ihrer Verteilung ähneln. Es entsteht der Eindruck, dass die Mittelwerte und Varianzen für Patienten mit Gingivitis, leichter-mäßiger und schwerer Parodontitis sich untereinander nicht wesentlich unterscheiden aber deutlich über den Werten für Gesunde liegen. Erst weitere Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet können eine endgültige Klärung bringen.

Zu dem Zusammenhang zwischen SP-D im Serum und Parodontitis gib es nur eine Veröffentlichung aus dem Jahr 2008 von Mitarbeitern der Studiengruppe, in deren Rahmen auch diese Doktorarbeit entstand, in der ein signifikanter Zusammenhang zwischen SP-D im Serum und chronischer Parodontitis ermittelt wurde (Glas et al.²²). Dieser Befund wird in

dieser Doktorarbeit nicht bestätigt. Der Hauptgrund dafür dürfte die unterschiedliche Methodik sein. In der Arbeit von Glas werden zwei Gruppen von Patienten betrachtet:

In die erste Gruppe „Patienten mit Parodontitis“ wurden nur Patienten eingestuft, die folgende vier Kriterien erfüllten: Die Patienten mussten mindestens 15 Zähne in situ aufweisen. Es sollten mindestens 8 Zähne vorliegen, deren Taschensondierungstiefe entweder an wenigstens einer der gemessenen Stellen mindestens 5 mm war oder deren Furkationsbefall der Klasse II zugeordnet werden konnte. Alternativ musste an erkrankten Zähnen radiologisch eine Distanz von 3 mm zwischen Limbus alveolaris und der Schmelz-Zementgrenze angetroffen werden. In die zweite Gruppe „gesunde Patienten“ wurden nur Patienten eingestuft, die folgende Kriterien erfüllten: Die Patienten mussten einen Gebissstatus mit mindestens 22 Zähnen in situ aufweisen. Es durften höchstens ein Messpunkt mit einer Taschensondierungstiefe 3 mm, keine Anzeichen für einen Furkationsbefall und auch kein klinisch oder radiologisch sichtbarer Attachmentverlust (z.B. Zahnfleischrückgang) ermittelt werden.

Damit verwendet diese Arbeit eine wesentlich andere Klasseneinteilung bezüglich der Parodontitis als die vorliegende Doktorarbeit, in der nur Patienten mit Parodontitis aufgenommen wurden und die Patienten, welche das Kriterium „an mindestens 7 Zähnen ein Knochenverlust > 50%“ erfüllten, in die Kategorie „schwer“ und alle anderen in die Kategorie „leicht – mäßig“ eingestuft wurden. Eine Konsequenz dieser Methodik ist, dass in diese Studie viele Patienten eingingen, die für die Studie von Glas et al. nicht die Voraussetzung zur Aufnahme in die Studie erfüllten. Anders als die Studie von Glas et al. enthält unsere Studie keine gesunden Individuen. Die strengeren Kriterien für die Klasseneinteilung bezüglich der Parodontitis in der Studie von Glas et al. erhöhen die Wahrscheinlichkeit, dass eine Korrelation, die in unserer Studie aufgrund der weniger scharfen Kriterien nicht zutage tritt, dort mit statistischen Methoden erfasst werden kann. Beim Vergleich der beiden Arbeiten fällt auf, dass in der Studie von Glas et al. das Niveau der SP-D Werte deutlich niedriger liegt als das in dieser Doktorarbeit gemessene Niveau. Die folgende Tabelle vergleicht unsere Ergebnisse mit denen von Glas et al.

		Anzahl Patienten	Median SP-D	Minimum SP-D	Maximum SP-D
Studie von Glas	Parodontitis	105	81,6	13,5	248,1
Diese Studie	Kontrollgruppe	122	52,6	12,9	212,2
	schwere Parodontitis	56	119,1	44,7	467,8
	leichte Parodontitis	106	108,3	10,1	600,5

Tabelle 33: Vergleich der wichtigsten Daten der Studie von Glas mit dieser Studie

In der Humanmedizin werden erhöhte SP-D Werte im Serum als Biomarker nicht nur mit Parodontitis sondern mit einer Vielzahl von Erkrankungen in Verbindung gebracht, wie Dermatitis, akute Lungenverletzung (ALI), akutes Atemnotsyndrom (ARDS), interstitielle Lungenfibrose, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Lungenemphysem,

Mukoviszidose, Herzkrankheiten, multiple Sklerose, Krebs, Sarkoidose, Allergien, Diabetes, rheumatische Arthritis und auch noch andere Lungenerkrankungen. Aber auch für Lebensumstände wie Alter, Body-Mass-Index (BMI) und Lebensgewohnheiten wie Rauchen wird vermutet, dass sie mit erhöhten SP-D Werten korreliert sind¹⁴⁸.

Horimasu et al.¹⁴⁹ fanden auch signifikante Unterschiede für SP-D im Serum zwischen Japanern und Deutschen sowohl in der gesunden Kontrollgruppe als auch in der Gruppe der an idiopathischer interstitieller Pneumonie (IIP) erkrankten Patienten, was sich nur durch genetische Ursachen erklären lässt. Die Studie zeigt auch, dass SP-D im Serum ein aussagekräftiger Biomarker für IIP ist. Die Unterschiede zwischen den erkrankten Patienten und der Kontrollgruppe sind deutlich. In dieser Doktorarbeit, die auch acht Patienten asiatischer Abstammung einschloss, wurde aber kein signifikanter Einfluss der individuellen ethnischen Abstammung auf die Expression des SP-D gefunden. Für den Faktor Rauchen wurde in dieser Doktorarbeit kein signifikanter Einfluss auf die Biomarker ermittelt. In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben. Eine systematische Literaturrecherche in der Medline-Datenbank der U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) mit den Stichworten „SP-D“, „serum“ und „smokers“ ergab drei Studien mit mehr als 100 Teilnehmern, in denen ermittelt wurde, ob es einen signifikanten Unterschied für SP-D im Serum zwischen Rauchern und Nicht-Rauchern gibt. Lomas et al.¹⁵⁰ ermittelt für eine gesunde Kontrollgruppe mit 497 Teilnehmern einen signifikanten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Es kann gefolgert werden, dass sich der Einflussfaktor Rauchen vergleichbar auf SP-D im Serum auswirkt wie der Einflussfaktor Parodontitis.

Johannson et al.¹⁵¹ findet für ein Kollektiv von 756 Zwillingspaaren, die in die drei Gruppen Raucher, Ex-Raucher und Nicht-Raucher eingeteilt wurden, einen signifikanten Unterschied zwischen den Rauchern und den beiden anderen Gruppen, die sich ihrerseits nicht signifikant unterscheiden. Van Mirt et al.¹⁵² ermittelt für 845 Jugendliche, die in die vier Gruppen Raucher, Passiv-Raucher, leichte Raucher und schwere Raucher einteilt wurden, keine signifikanten Unterschiede.

In dieser Doktorarbeit wurde keine signifikante Korrelation zwischen dem Faktor Alter oder Geschlecht und SP-D im Serum gefunden. Für die drei Faktoren Geschlecht, Alter und Rauchen finden Sørensen et al.¹⁵³ in einer Studie mit 738 Zwillingspaaren, dass die Werte für SP-D im Serum mit diesen Faktoren korreliert sind. Bezüglich des Alters bilden sie vier Gruppen (-30, 31-40, 41-50, 50+). In den vier Gruppen haben Männer signifikant höhere Werte als Frauen und die SP-D Werte für Frauen bzw. Männer steigen mit jeder Altersgruppe signifikant an.

SP-D spielt eine große Rolle bei der Neutralisierung von Viren, Abtötung von Bakterien, Pilzen und nekrotischen Zellen, Abmilderung von allergischen Reaktionen und Beseitigung von Entzündungen¹⁵⁴. SP-D kann also auch krankheitshemmend wirken, was dazu führt, dass der SP-D Wert zu Anfang der Entzündung sogar absinkt, um erst danach wieder zu höheren Werten anzusteigen, so dass kein monotoner Zusammenhang zwischen dem Fortschreiten der Krankheit und der Expression von SP-D zu erwarten ist.

Übersichtsartikel^{193,194} zur Rolle von SP-D im Serum als Biomarker für die menschliche Gesundheit zeigen, dass eine verstärkte Reaktion des Immunsystems zu erhöhten SP-D

Werten führt. Die Stärke der Reaktion kann aber durch zusätzliche Faktoren wie Rauchen, Diabetes oder Anpassungseffekte an eine chronische Erkrankung beeinträchtigt werden, so dass kein einfacher Zusammenhang zwischen der absoluten Höhe der Werte des Biomarkers und der Schwere der Erkrankung zu erwarten ist.

Die vielen potentiellen Ursachen für erhöhte SP-D Werte im Serum und die vielen Faktoren, die die absolute Höhe dieser Werte beeinflussen, sind eine mögliche Erklärung für die starke Streuung der Messwerte in dieser Studie.

Bewertung der Ergebnisse zu MMP-8

Viele Veröffentlichungen untersuchen die Möglichkeiten, MMP-8 als Biomarker für schwerwiegende oder schlecht zu diagnostizierende Krankheiten zu nutzen^{155–163}.

Eine systematische Literaturrecherche in der Medline-Datenbank der U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) mit den Stichworten „MMP-8“, „serum“ und „periodontitis“ ergab zwei Studien, in denen Werte für MMP-8 im Serum für an chronischer Parodontitis erkrankte Patienten und eine Kontrollgruppe angegeben wurden. Nizam et al.¹⁶⁴ fanden keine signifikanten Unterschiede. Die Werte für die Parodontitis-Gruppe liegen deutlich unter den in dieser Doktorarbeit gemessenen Werten. Die zweite Studie von Noack et al.¹³⁹ dagegen zeigt mit den aktuellen Ergebnissen vergleichbare Werte. Diese untersucht die drei Gruppen: Gesunde, Patienten mit Gingivitis und Patienten mit Parodontitis. In der Studie liegt der Mittelwert der gesunden Kontrollgruppe deutlich über dem Mittelwert der Patienten mit Gingivitis aber deutlich unter dem Mittelwert der Parodontitis-Gruppe.

Zu der Frage, ob MMP-8 im Speichel als Biomarker verwendet werden kann, gibt es schon mehrere Veröffentlichungen, die einen signifikanten Zusammenhang beobachten^{147,165–167}. Die wesentlichen Ergebnisse zu MMP-8 im Speichel als Biomarker sind in der Studie von Miller et al. zusammen gefasst¹⁶⁸: MMP-8 Werte sind im nicht entzündeten Parodont niedrig aber im entzündeten Bereich signifikant höher. Bei Parodontitis von Erwachsenen werden signifikant erhöhte Werte von MMP-8 sowohl in der entzündeten Gingiva als auch im Sulkusfluid nachgewiesen. Die MMP-8 Werte im Speichel von Patienten mit Parodontitis sind im Mittel viermal so hoch wie bei gesunden Patienten. Die MMP-8 Werte im Speichel gehen signifikant zurück, wenn die Parodontitis behandelt wird. Insbesondere scheint eine Kombination von MMP-8 im Speichel und anderen Biomarkern wie TIMP-1 erfolgversprechend¹⁶⁹.

In einer Übersichtsarbeit von 2014¹⁷⁰ werden die MMP-8 Werte von Rauchern und Nichtrauchern mit und ohne Parodontitis untersucht. Aufgrund der Literatúrauswertung kommen die Autoren zum Schluss, dass Rauchen einen erheblichen Einfluss auf die MMP-8 Konzentrationen im Speichel hat, der bei der Diagnose mitberücksichtigt werden muss.

Die durchschnittlichen MMP-8 Werte im Speichel sind für Raucher niedriger als für Nichtraucher aber gleichzeitig werden bei Rauchern lokal die höchsten Werte der Studie gefunden. Die Autoren kommen zum Schluss, dass zwischen den MMP-8

Konzentrationen und den Stadien der Parodontitis kein linearer oder einfacher Zusammenhang besteht. Vielmehr haben sie den Eindruck, dass die Parodontitis und somit die von ihr verursachte MMP-8 Produktion in Schüben verläuft und es deshalb erforderlich ist, dass bei der Auswertung alle Faktoren, die sich zusätzlich zu der Parodontitis auf MMP-8 auswirken, mitberücksichtigt werden müssen.

Eine Übersichtsstudie von 2013¹⁷¹ enthält die Aussage, dass Patienten mit Diabetes doppelt so hohe MMP-8 Konzentrationen im Speichel aufweisen wie Gesunde. Interessant sind auch die dort dargelegten Befunde, dass erhöhte Konzentrationen von MMP-8 im Speichel nicht unbedingt auf die Parodontitis zurückzuführen sind, sondern auch von anderen systemischen Krankheiten wie Krebs hervorgerufen werden können.

Zum Potential von MMP-8 im Serum als Biomarker in der Humanmedizin gibt es eine große Zahl von Veröffentlichungen¹⁷². MMP-8 ist als Biomarker vielversprechender als SP-D, da es mit viel mehr Krankheiten in Verbindung gebracht werden kann¹⁷³, z.B. Herzmuskelerkrankungen¹⁷⁴, Bronchiektasie¹⁷⁵, Lungeninsuffizienz¹⁷⁶, Melanomen¹⁷⁷, Brustkrebs^{178,179} und schlechter Wundheilung bei Diabetikern¹⁸⁰. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass MMP-8 eine wesentliche Rolle bei der Zerstörung von Gewebe bei verschiedenen Entzündungskrankheiten spielt¹⁷³. Wenn erhöhte Werte des Biomarkers MMP-8 im Serum durch viele Erkrankungen verursacht sein können, dann ist die Spezifität für die Parodontitis eher gering.

Die bislang zitierten Arbeiten behandeln MMP-8 entweder nur im Speichel oder nur im Serum. In der Literatur wurde eine Arbeit gefunden, die gleichzeitig MMP-8 Werte im Speichel und im Serum gemessen hat. In dieser Studie zu Patienten mit Arthritis¹⁸¹ wurde untersucht, wie sich die Konzentration von MMP-8 im Serum und im Speichel ändert, wenn das Antibiotikum Doxycyclin, das die Entzündung hemmt, verabreicht wird. Das Niveau der Werte im Serum entspricht dem Niveau, das in dieser Studie gemessen wurde. Bemerkenswert ist, dass die Werte für den Speichel ungefähr fünfmal höher sind, obwohl die Quelle des MMP-8 nicht in der Mundhöhle liegt, sondern in den Gelenken und es nur durch den Blutkreislauf in die Mundhöhle gelangen kann. Da eine Parodontitis nicht zu den Ausschlusskriterien dieser Studie gehörte, könnten jedoch andere entzündliche Erkrankungen, die hohen Werte im Speichel verursacht haben.

Auch in anderen Studien, in denen Mittelwerte für die MMP-8 Konzentrationen im Speichel bei Parodontitis angegeben werden, liegen diese erheblich höher als die in dieser Studie gemessenen Werte im Serum, z.B. 407.13 ng/mL¹⁸².

In einem aktuellen Übersichtsartikel mit einer Metaanalyse zur Frage der Aussagefähigkeit von MMP-8 im Speichel als Biomarker für Parodontitis kommen die Autoren zum Schluss, dass zwar die Mehrheit der ausgewerteten Studien einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression von MMP-8 im Speichel und Parodontitis ermittelt aber wegen der Heterogenität und dem Publikationsbias der Studien weitere Untersuchungen erforderlich sind, um diesen Zusammenhang zu verifizieren¹⁸³.

Mehrere neuere Studien untersuchen deshalb, ob sich die Sensitivität und Spezifität von MMP-8 im Speichel als Biomarker für Parodontitis erhöhen lässt, indem man weitere Biomarker mit MMP-8 kombiniert.

Rathnayake et al. berichten, dass die Expression von MMP-8 und IL-1 β , sowie das Verhältnis von MMP-8/TIMP-1 im Speichel als Biomarker genutzt werden können¹⁸⁴.

Ebersole et al. kommen aufgrund ihrer Untersuchungen zu dem Schluss, dass MMP-8, IL-1 β , IL-6 und MIP-1 α im Speichel jeder für und auch in Kombination geeignet sind, um gesunde Patienten von solchen mit Gingivitis und Parodontitis zu differenzieren¹⁸⁵. Baeza et al. finden, dass MMP-8 und MMP-9 im Speichel diagnostisches Potential für chronische Parodontitis haben¹³⁷. Wu et al. ermitteln, dass MMP-8, IL-1 β und MMP-9 diagnostisches Potential besitzen, um an Parodontitis erkrankte Patienten zu identifizieren¹⁸⁶.

Um entsprechende Veröffentlichungen zu MMP-8 im Serum zu finden wurde eine systematische Literaturrecherche in der Medline-Datenbank der U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) mit den Stichworten „MMP-8“, „serum“, „periodontitis“ und „biomarker“ durchgeführt. Die Recherche ergab zwei relevante Artikel.

Äyräväinen et al. untersuchen die Biomarker Expressionen im Speichel und im Serum von Patienten mit beginnender oder chronischer rheumatischer Arthritis in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Parodontitis. Patienten, die an chronischer rheumatischer Arthritis litten, hatten erhöhte MMP-8 und IL-6 Expression im Serum unabhängig von einer Parodontitis Erkrankung. Erhöhte MMP-8 Expressionen im Speichel dagegen wurden nur bei Vorliegen einer Parodontitis gefunden¹⁸⁷. Lahdentausta et al. untersuchten für vier Gruppen von Patienten, mit und ohne akutem Koronarsyndrom und mit und ohne Parodontitis, die Expression der Biomarker MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und MPO im Serum und im Speichel. Sie fanden eine klare Zuordnung: MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und MPO im Serum sind wertvolle Biomarker für das Vorliegen von akutem Koronarsyndrom und andererseits sind erhöhte Expressionen dieser vier Biomarker im Speichel wertvolle Indikatoren für das Vorliegen einer Parodontitis¹⁸⁸.

Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass erhöhte Expression von MMP-8 im Speichel von einer Parodontitis herbeigeführt wird, während erhöhte Expression von MMP-8 im Serum eher von anderen systemischen Erkrankungen verursacht wird. Diese Hypothese steht in Einklang mit den Ergebnissen dieser Doktorarbeit, in der kein signifikanter Zusammenhang zwischen der MMP-8 Expression im Serum und der Schwere der Parodontitis gefunden wurde.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Viele Veröffentlichungen untersuchen bereits die Möglichkeiten, SP-D und MMP-8 als Biomarker für schwerwiegende oder schlecht zu diagnostizierende Krankheiten zu nutzen, unter anderem auch als einfache und wenig aufwändige Diagnosemethode für Parodontitis. Gegenstand dieser Studie ist die Fragestellung, ob sich SP-D im Serum und MMP-8 im Serum als signifikante Indikatoren für die Schwere der Parodontitis eignen.

In diese Studie wurden 170 Patienten aus der Zahnklinik der LMU München aufgenommen, bei denen eine marginale Parodontitis durch Taschentiefenmessung, Knochenverlust im Röntgenbild und Blutung bei Sondierung ermittelt wurde. Die Klassifizierung der Schwere der Parodontitis erfolgte in zwei Kategorien. Die Risikomerkmale Geschlecht, ethnische Abstammung, Alter des Patienten und der Risikofaktor Rauchen wurden zusammen mit den Parametern Anzahl der vorhandenen Zähne, Knochenverlust, Knochenindex in der Anamnese erhoben. Als weitere Risikofaktoren wurden die parodontal pathogenen Bakterien AA, PG, FN, TF, PM, TD und PI in dieser Studie berücksichtigt.

Proben aus der Parodontaltasche wurden für den Nachweis der parodontal pathogenen Bakterien mit sterilen Papierspitzen entnommen. Im Labor wurde die DNA der Bakterien isoliert, mit PCR vervielfältigt und mit ELISA nachgewiesen. Die Bestimmung der Expression der Biomarker im Blut erfolgte mit ELISA.

Die statistischen Analysen zeigten keine signifikante Korrelation zwischen der Expression der Biomarker im Serum und der Schwere der Parodontitis. Auch eine Korrelation zwischen der Expression der Biomarker und den parodontal pathogenen Bakterien wurde nicht gefunden, außer einer schwachen Korrelation zwischen SP-D und TD.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie keine signifikante Korrelation zwischen der Stärke der klinischen Manifestation der marginalen Parodontitis und der Expression von SP-D im Serum und MMP-8 im Serum gefunden werden.

7. ANHANG

DETAILLIERTE DATEN DER KORRELATIONSANALYSE

		Ge- schlecht	Ethnische Abstammung	Rau- chen	Alter des Pat. bei Rö- Aufnahme	Knochen- verlust	Vorhan- dene Zähne	Parodontitis- stadium
Geschlecht	Korrelations- koeffizient	1	0,036	0,028	-,235**	0,02	,159*	0,024
	Sig. (2-seitig)	.	0,642	0,722	0,003	0,799	0,043	0,761
	N	170	170	170	161	162	162	162
Ethnische Abstammung	Korrelations- koeffizient	0,036	1	0,036	-,317**	-0,091	,194*	-0,081
	Sig. (2-seitig)	0,642	.	0,637	0	0,252	0,014	0,306
	N	170	170	170	161	162	162	162
Rauchen	Korrelations- koeffizient	0,028	0,036	1	-,177*	,261**	-0,078	,295**
	Sig. (2-seitig)	0,722	0,637	.	0,025	0,001	0,321	0
	N	170	170	170	161	162	162	162
Alter des Pat. bei Rö- Aufnahme	Korrelations- koeffizient	-,235**	-,317**	-,177*	1	0,084	-,295**	0,009
	Sig. (2-seitig)	0,003	0	0,025	.	0,288	0	0,91
	N	161	161	161	161	161	161	161
Knochen- verlust	Korrelations- koeffizient	0,02	-0,091	,261**	0,084	1	-,251**	,670**
	Sig. (2-seitig)	0,799	0,252	0,001	0,288	.	0,001	0
	N	162	162	162	161	162	162	162
Vorhandene Zähne (Anzahl)	Korrelations- koeffizient	,159*	,194*	-0,078	-,295**	-,251**	1	-,267**
	Sig. (2-seitig)	0,043	0,014	0,321	0	0,001	.	0,001
	N	162	162	162	161	162	162	162
Parodontitis- stadium	Korrelations- koeffizient	0,024	-0,081	,295**	0,009	,670**	-,267**	1
	Sig. (2-seitig)	0,761	0,306	0	0,91	0	0,001	.
	N	162	162	162	161	162	162	162

		AA	PG	FN	PI	TF	PM	TD	SP-D Blut ng/ml	MMP-8 Blut ng/ml
Geschlecht	Korrelations- koeffizient	0,051	- 0,024	- 0,005	0,062	0,05	0,005	0,036	-0,047	0,019
	Sig. (2-seitig)	0,511	0,752	0,948	0,421	0,515	0,95	0,642	0,546	0,811
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
Ethnische Abstammung	Korrelations- koeffizient	,180*	0,037	0,06	0,037	,151*	,154*	0,048	-0,064	0,036
	Sig. (2-seitig)	0,019	0,628	0,44	0,632	0,049	0,045	0,533	0,407	0,645
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
Rauchen	Korrelations- koeffizient	0,023	- 0,082	- 0,028	0,027	0,108	- 0,034	0,042	,237**	0,064
	Sig. (2-seitig)	0,769	0,287	0,719	0,727	0,161	0,663	0,583	0,002	0,407
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
Alter des Pat. bei Rö- Aufnahme	Korrelations- koeffizient	- 0,098	0,029	0,014	0,049	- 0,087	0,08	- 0,138	-0,055	-0,093
	Sig. (2-seitig)	0,216	0,713	0,86	0,539	0,271	0,314	0,08	0,485	0,24
	N	161	161	161	161	161	161	161	161	161
Knochenverlust	Korrelations- koeffizient	- 0,141	0,042	0,054	- 0,007	0,035	- 0,028	- 0,119	0	0,035
	Sig. (2-seitig)	0,074	0,6	0,498	0,925	0,655	0,721	0,132	0,999	0,657
	N	162	162	162	162	162	162	162	162	162
Vorhandene Zähne (Anzahl)	Korrelations- koeffizient	0,133	- 0,055	-0,04	-0,06	0,009	- 0,063	0,067	-,207**	-0,073
	Sig. (2-seitig)	0,09	0,486	0,617	0,451	0,909	0,428	0,394	0,008	0,355
	N	162	162	162	162	162	162	162	162	162
Parodontitis- stadium	Korrelations- koeffizient	- 0,024	- 0,003	0,075	0,044	- 0,007	0,005	0,022	0,054	0,013
	Sig. (2-seitig)	0,765	0,971	0,345	0,579	0,929	0,951	0,778	0,498	0,866
	N	162	162	162	162	162	162	162	162	162

		Ge- schlecht	Ethnische Abstam- mung	Rau- chen	Alter des Pat. bei Rö- Aufnahme	Knochen- verlust	Vorhandene Zähne (Anzahl)	Parodontitis- stadium
AA	Korrelations- koeffizient	0,051	,180*	0,023	-0,098	-0,141	0,133	-0,024
	Sig. (2-seitig)	0,511	0,019	0,769	0,216	0,074	0,09	0,765
	N	170	170	170	161	162	162	162
PG	Korrelations- koeffizient	-0,024	0,037	-0,082	0,029	0,042	-0,055	-0,003
	Sig. (2-seitig)	0,752	0,628	0,287	0,713	0,6	0,486	0,971
	N	170	170	170	161	162	162	162
FN	Korrelations- koeffizient	-0,005	0,06	-0,028	0,014	0,054	-0,04	0,075
	Sig. (2-seitig)	0,948	0,44	0,719	0,86	0,498	0,617	0,345
	N	170	170	170	161	162	162	162
PI	Korrelations- koeffizient	0,062	0,037	0,027	0,049	-0,007	-0,06	0,044
	Sig. (2-seitig)	0,421	0,632	0,727	0,539	0,925	0,451	0,579
	N	170	170	170	161	162	162	162
TF	Korrelations- koeffizient	0,05	,151*	0,108	-0,087	0,035	0,009	-0,007
	Sig. (2-seitig)	0,515	0,049	0,161	0,271	0,655	0,909	0,929
	N	170	170	170	161	162	162	162
PM	Korrelations- koeffizient	0,005	,154*	-0,034	0,08	-0,028	-0,063	0,005
	Sig. (2-seitig)	0,95	0,045	0,663	0,314	0,721	0,428	0,951
	N	170	170	170	161	162	162	162
TD	Korrelations- koeffizient	0,036	0,048	0,042	-0,138	-0,119	0,067	0,022
	Sig. (2-seitig)	0,642	0,533	0,583	0,08	0,132	0,394	0,778
	N	170	170	170	161	162	162	162
SP-D Blut ng/ml	Korrelations- koeffizient	-0,047	-0,064	,237**	-0,055	0	-,207**	0,054
	Sig. (2-seitig)	0,546	0,407	0,002	0,485	0,999	0,008	0,498
	N	170	170	170	161	162	162	162
MMP-8 Blut ng/ml	Korrelations- koeffizient	0,019	0,036	0,064	-0,093	0,035	-0,073	0,013
	Sig. (2-seitig)	0,811	0,645	0,407	0,24	0,657	0,355	0,866
	N	170	170	170	161	162	162	162

		AA	PG	FN	PI	TF	PM	TD	SP-D Blut ng/ml	MMP-8 Blut ng/ml
AA	Korrelations- koeffizient	1	0,047	,181*	0,073	0,019	0,098	0,083	-0,01	0,017
	Sig. (2-seitig)	.	0,546	0,018	0,344	0,801	0,202	0,28	0,896	0,827
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
PG	Korrelations- koeffizient	0,047	1	,355**	0,13	0,077	0,026	,249**	0,022	-0,058
	Sig. (2-seitig)	0,546	.	0	0,09	0,32	0,733	0,001	0,772	0,451
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
FN	Korrelations- koeffizient	,181*	,355**	1	0,121	-0,031	0,126	,220**	0,037	0,02
	Sig. (2-seitig)	0,018	0	.	0,117	0,686	0,101	0,004	0,627	0,799
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
PI	Korrelations- koeffizient	0,073	0,13	0,121	1	,289**	,173*	,332**	-0,051	0,014
	Sig. (2-seitig)	0,344	0,09	0,117	.	0	0,024	0	0,51	0,852
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
TF	Korrelations- koeffizient	0,019	0,077	-0,031	,289**	1	,343**	,273**	-0,032	0,107
	Sig. (2-seitig)	0,801	0,32	0,686	0	.	0	0	0,675	0,165
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
PM	Korrelations- koeffizient	0,098	0,026	0,126	,173*	,343**	1	0,005	-0,032	-0,133
	Sig. (2-seitig)	0,202	0,733	0,101	0,024	0	.	0,95	0,681	0,085
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
TD	Korrelations- koeffizient	0,083	,249**	,220**	,332**	,273**	0,005	1	,204**	0,028
	Sig. (2-seitig)	0,28	0,001	0,004	0	0	0,95	.	0,008	0,713
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
SP-D Blut ng/ml	Korrelations- koeffizient	-0,01	0,022	0,037	-0,051	-0,032	-0,032	,204**	1	0,05
	Sig. (2-seitig)	0,896	0,772	0,627	0,51	0,675	0,681	0,008	.	0,516
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170
MMP-8 Blut ng/ml	Korrelations- koeffizient	0,017	-0,058	0,02	0,014	0,107	-0,133	0,028	0,05	1
	Sig. (2-seitig)	0,827	0,451	0,799	0,852	0,165	0,085	0,713	0,516	.
	N	170	170	170	170	170	170	170	170	170

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Reddy S. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*. 2. Auflage. Jaypee Brothers Medical Publishers; 2012.
2. Hellwig E, Klimek J, Attin T. *Einführung in Die Zahnerhaltung*. Deutscher Zahnärzteverlag; 2013.
3. Percival S, Knottenbelt D, Cochrane C. *Biofilms and Veterinary Medicine*. Springer Series; 2011:46.
4. Mundgesundheitsstudie (DMS IV). 2006.
5. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol*. 2005;43(11). doi:10.1128/JCM.43.11.5721.
6. Weidauer H. *Laryngo-Rhino-Otologie - Speichel Als Keimüberträger*. Thieme Verlag; 2001:26-60. doi:10.1055/s-2001-13926.
7. Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-144.
8. Lamster IB, Lalla E, Wenche S, Taylor GW, Borgnakke WS. The relationship between oral health and diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc*. 2008;139(5):19-24.
9. Shultis W, Weil EJ, Looker HC, et al. Effect of periodontitis on overt nephropathy and end-stage renal disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(2):306-311. doi:10.2337/dc06-1184.
10. Gurenlian JR. The Role of Dental Plaque Biofilm in Oral Health. *J Dent Hyg*. 2007;81(5):1-11.
11. Sanderink R, Zitzmann N, Saxer UP, Schlagenhauf U, Persson R, Erne P. Parodontitis und Periimplantitis: in den menschlichen Körper disseminierende Biofilm-Infekte. *Quintessenz Parodontol*. 2008;59(3):273-285.
12. Geerts S, Nys M, De M, et al. Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication : association with periodontitis severity. *J Periodontol*. 2002;73(1):73-78.
13. Forner L, Larsen T, Kilian M, Holmstrup P. Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*. 2006;33(6):401-407.
14. Hagel S, Pletz MW, Brunkhorst FM, Seifert H, Kern W V. [Bacteremia and sepsis]. *Internist (Berl)*. 2013;54(4):399-407. doi:10.1007/s00108-012-3185-4.

15. Li X, Kolltveit M, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(4):547-558. doi:10.1128/CMR.13.4.547-558.2000.Updated.
16. Haraszthy V, Zambon J, Trevisan M, Zeid M, Genco R. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol.* 2000;71(10):1554-1560.
17. Chiu B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am Heart J.* 2001;138:534-536.
18. Grossi S, Genco R. Periodontal disease and diabetes mellitus : a two-way relationship. *Ann Periodontol.* 1998;3(1):51-61.
19. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):99-112.
20. Iacopino a M. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):125-137. doi:10.1902/annals.2001.6.1.125.
21. Miller CS, King CP, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas M V. Salivary biomarkers of existing periodontal disease. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(3):322-329. doi:10.14219/jada.archive.2006.0181.
22. Glas J, Beynon V, Bachstein B, et al. Increased plasma concentration of surfactant protein D in chronic periodontitis independent of SFTPD genotype : potential role as a biomarker. *Tissue Antigens.* 2008;(5):21-28. doi:10.1111/j.1399-0039.2008.01056.x.
23. Evans AS, Street C, Haven N. Causation and Disease : The Henle-Koch Postulates Revisited. *Yal J Biol Med.* 1976;195:175-195.
24. Socransky SS. Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1979;6(7):16-21.
25. Wolf HF, Rateitschak-Pluss E, Rateitschak K. *Color Atlas of Dental Medicine: Periodontology.* Thieme Verlag; 2004.
26. Jordan a. R, Micheelis W. Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). *Dtsch Zahnärzteverlag DÄV GmbH.* 2016;(Dms V):617. doi:10.1186/1472-6831-14-161.
27. Weber T. *Memorix Zahnmedizin.* 3. Auflage. Thieme Verlag; 2009.
28. Hellwege K-D. *Die Praxis Der Professionellen Zahnreinigung & Ultraschall-Scaling: Eine Arbeitsanleitung Für Den Zahnarzt Und Sein Mitarbeiterteam.* 3. Auflage. Thieme Verlag; 2007.
29. Jordan AR, Gaengler P, Jöhren H-P. Clinical treatment outcomes of periodontal therapy in HIV-seropositive patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Eur J Med Res.* 2006;(11):232-235.
30. Gaengler P, Markovic L, Norden D, Jordan RA. New insights in understanding dental caries and periodontal disease: the avalanche model. *Health (Irvine Calif).* 2009;01(04):263-268. doi:10.4236/health.2009.14042.

31. Lin L, Gängler P, Skribner J, Hoffmann T. Reattachment or new attachment in apical-marginal periodontal bone loss. A clinical-histological discussion. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl Gesamte*. 1990;78(2):119-125.
32. Wolf HF, Hassell TM. *Color Atlas of Dental Hygiene: Periodontology*. 1. Edition. Thieme Verlag; 2006:204.
33. Isidor F, Karring T, Nyman S, Lindhe J. New attachment- reattachment following reconstructive periodontal surgery. *J Clin Periodontol*. 1985;12(9):728-735.
34. Saglie FR, Marfany A, Camargo P. Intragingival Occurence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* in Active Destructive Periodontal Lesions. *J Periodontol*. 1988;59(4):259-265.
35. Heidemann D. *Parodontologie: Praxis Der Zahnheilkunde Band 4*. Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 2005:22.
36. Guthmiller JM, Novak KF. Polymicrobial Disease - Chapter 8 Periodontal Diseases. *Am Soc Microbiol*. 2002;(DC).
37. Zambon J, Harasthy V, Hariharan G, Lally E, Demuth D. The Microbiology of Early-Onset Periodontitis: Association on Highly Toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Strains With Localized Juvenile Periodontitis. *J Periodontol*. 1996;67(3s):282-290.
38. Zamon J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1985;12(1):1-20.
39. Cortelli J, Cortelli S, Jordan S, Haraszthy, Zmbon J. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32:860-866.
40. Takeuchi Y, Umeda M, Ishizuka M, Huan Y, Shikawa I. Prevalence of Periodontopathic Bacteria in Aggressive Periodontitis Patients in a Japanese Population. *J Periodontol*. 2003;74(10):1460-1469.
41. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man . Rapid , moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*. 1986;13(5):431-445.
42. Zijng V, van Leeuwen MBM, Degener JE, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One*. 2010;5(2):e9321. doi:10.1371/journal.pone.0009321.
43. Christersson L, Slots J, Zambon J, Genco R. Transmission and Colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Localized Juvenile Periodontitis. *J Periodontol*. 1985;56(3):127-131.
44. Reddy S, Kaul S, Reader PMGS, Asutkar H. Dental Plaque“ Uveiling the biofilm inside .” *Ejournal Dent*. 2012;2(1):119-125.

45. Boyes PJ, Fds F. Origin and Nature of the Acquired Pellicle. *Proc R Society Med.* 1968;61(September):33-40.
46. Ganeshkumar N, Song M, Barry C. Cloning of a Streptococcus sanguis Adhesin Which Mediates Binding to Saliva-Coated Hydroxyapatite. *Infect Immun.* 1988;56(5):1150-1157.
47. Nyvad B, Kilian M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res.* 1987;95(5):369.80.
48. Kolenbrander PE, London J. Adhere Today , Here Tomorrow : Oral Bacterial Adherence. *J Bacteriol.* 1993;175(11):3247-3252.
49. Miller B, Bassler B. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001;55:165-199.
50. Africa CWJ. The Microbial Aetiology of Periodontal Diseases. *Univ West Cape.* 1977.
51. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:413-437. doi:10.1146/annurev.micro.54.1.413.
52. Schröder J, Harder J. Human beta-defensin. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999;31(6):645-651.
53. Fujii G, Selsted ME, Eisenberg D. Defensins promote fusion and lysis of negatively charged membranes. *Protein Sci.* 1993;2(8):1301-1312. doi:10.1002/pro.5560020813.
54. Boehringer H, Taichman NS, Shenker BJ. Suppression of fibroblast proliferation by oral spirochetes. *Infect Immun.* 1984;45(1):2-3.
55. Van de Wetering JK, van Golde LMG, Batenburg JJ. Collectins: players of the innate immune system. *Eur J Biochem.* 2004;271(7):1229-1249. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04040.x.
56. Hartshorn KL, Crouch E, White MR, et al. Pulmonary surfactant proteins A and D enhance neutrophil uptake of bacteria. *Am J Physiol.* 1998;274(6):L958-L969.
57. Wu H, Kuzmenko A, Wan S, et al. Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability. *J Clin Invest.* 2003;111(10):1589-1602. doi:10.1172/JCI16889.
58. Van Iwaarden F, Welmers B, Verhoef J, Haagsman H, van Golde L. Pulmonary surfactant protein A enhances the host-defense mechanism of rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1990;2(1):91-98.
59. Wolf H, Rateitschak E, Rateitschak K. *Farbatlantzen Der Zahnmedizin - Parodontologie.* Thieme Verlag; 2004.
60. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74(3):391-401. doi:10.1902/jop.2003.74.3.391.

61. Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Dufour L, Johnson E, Roopenian D. CD4 + T Cells and the Proinflammatory Cytokines Gamma Interferon and Interleukin-6 Contribute to Alveolar Bone Loss in Mice. *Infect Immun*. 1999;67(6):2804-2809.
62. Suda T, Udagawa N, Nakamura I, Miyaura C, Takahashi N. Modulation of osteoclast differentiation by local factors. *Bone*. 1995;17(2):S87-S91. doi:10.1016/8756-3282(95)00185-G.
63. Baggiolini M, Loetscher P, Moser B. Interleukin-8 and the chemokine family. *Int J Immunopharmacol*. 1995;17(2):103-108. doi:10.1016/0192-0561(94)00088-6.
64. Behrends J, Bischofberger J, Deutzmann T. Duale Reihe: Physiologie. 2009:195.
65. Jan Koolman. *Taschenatlas Der Biochemie*. 3. Auflage. Thieme Verlag; 2003:298.
66. Nixdorff, Uwe Dannewitz B, Eickholz P. *Check-up-Medizin*. Thieme Verlag; 2009:125-128.
67. Gängler P, Hoffman T, Willershausen B, Schwanzer N, Ehrenfeld M. *Konservierende Zahnheilkunde Und Parodontologie*. 3. Auflage. Georg Thieme Verlag; 2010:416.
68. Deschner J, Eick S. Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis. *ZM Online*. 2011;11.
69. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*. 2007;9:S1. doi:10.1186/ar2165.
70. Dyke TE Van, Dave S. Risk Factors for Periodontitis. *J Int Acad Periodontol*. 2003;7(1):3-7.
71. Grossi S, Genco R, Machtei E, et al. Assessment of risk for periodontal disease . II . Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*. 1995;66(1):23-29.
72. Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and Periodontal Disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(3):356-365. doi:10.1177/10454411000110030501.
73. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenkein JG, Schenkein H, Tew JG. Influence of smoking and race on immunoglobulin G subclass concentrations in early-onset periodontitis patients. *Infect Immun*. 2011;64(7):1996-1997.
74. Zitzmann NU, Ramseier CA, Weiger R, Walter C. Parodontitis. *Schweiz Med Forum*. 2013;13(9):183-186.
75. Schütt S. Immunpathogenese der Parodontitis. *Dtsch Gesellschaft für Umwelt Zahnmedizin*. 8.
<http://www.deguz.de/fachkreise/fachinformationen/parodontitis/immunpathogenese-der-parodontitis.html>.
76. Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res*. 2004;63(4):582-592. doi:10.1016/j.cardiores.2004.05.001.

77. Lalla E, Lamster IB, Feit M, et al. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest*. 2000;105(8):1117-1124. doi:10.1172/JCI8942.
78. Van Dyke TE, Dave S. NIH Public Access. *J Int Acad Periodontol*. 2006;7(1):3-7.
79. Taylor G, Burt B, Becker M, Genco R, Shlossman M. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes. *Ann Periodontol*. 1998;3(1):30-39.
80. Baelum V, Chen X, Manji F, Luan W-M, Fejerskov O. Profiles of destructive periodontal disease in different populations. *J Periodontal Res*. 1996;31(1):17-26. doi:10.1111/j.1600-0765.1996.tb00459.x.
81. Beck J, Koch G, Rozier R, Ge, Tudor G. Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. *J Periodontol*. 1990;61(8):521-528.
82. Borrell LN, Burt B a., Neighbors HW, Taylor GW. Social Factors and Periodontitis in an Older Population. *Am J Public Health*. 2004;94(5):748-754. doi:10.2105/AJPH.94.5.748.
83. Grossi S, Grenco R, Machtei E, et al. Assessment of risk for periodontal disease . II . Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*. 1995;66(1):23-29.
84. Norderyd O, Grossi S, Machtei E, et al. Periodontal status of women taking postmenopausal estrogen supplementation. *J Periodontol*. 1993;64(10):957-962.
85. Kiecolt-Glaser J, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser Ronald. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(15):90908424.
86. Saito T, Shimazaki Y, Sakamoto M. Obesity and periodontitis. *N Engl J Med*. 1998;339(7):482-483. doi:10.1056/NEJM199808133390717.
87. Al-Zahrani MS, Bissada NF, Borawskit E a. Obesity and periodontal disease in young, middle-aged, and older adults. *J Periodontol*. 2003;74(5):610-615. doi:10.1902/jop.2003.74.5.610.
88. Haagsman H, Diemel R. Surfactant-associated proteins : functions and structural variation. *Comp Biochem Physiol - Part A Mol Integr Physiol*. 2001;129(1):91-108.
89. Rausch F, Schicht M, Paulsen F, Ngueya I, Bräuer L, Brandt W. "SP-G", a putative new surfactant protein--tissue localization and 3D structure. *PLoS One*. 2012;7(10):e47789. doi:10.1371/journal.pone.0047789.
90. Weisso WI, Crichlow G V, Murthysq HMK, Hendricksons WA. Physical Characterization and Crystallization of the Carbohydrate- recognition Domain of a Mannose-binding Protein from Rat *. *J Biol Chem*. 1991;266(31):20678-20686.
91. Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(1):58-68. doi:10.1038/nri1528.

92. Selby G, Benbrook D, Chen W. Surfactant protein (sp) -a and sp-d as antimicrobial and immuno-therapeutic agents. 2013. doi:10.2174/157489110791233559.
93. SFTPD / SP-D / SFTP4 Antibody , Rabbit PAb. 2008;72.
94. Doua DN, Jackson R, Grasemann H, Palaniyar N. Innate Immune Collectin Surfactant Protein D Simultaneously Binds Both Neutrophil Extracellular Traps and Carbohydrate Ligands and Promotes Bacterial Trapping. *J Immunol.* 2011;187:1856-1865. doi:10.4049/jimmunol.1190064.
95. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827-839. doi:10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D.
96. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562-573. doi:10.1016/j.cardiores.2005.12.002.
97. Manello F, Luchetti F, Falcieri E, Papa S. Multiple roles of matrix metalloproteinases during apoptosis. *Apoptosis.* 2005;10(1):19-24.
98. Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs. *Bioorganic Med Chem.* 2007;15(6):2223-2268. doi:10.1016/j.bmc.2007.01.011.
99. Murphy. Basic domain structures of the matrix metalloproteinases (MMPs). *Arthritis Res Ther.* 2002;4(Suppl 3):39-49. doi:10.1186/ar572.
100. Löffek S, Schilling O, Franzke CW. Series “matrix metalloproteinases in lung health and disease” edited by J. Müller-Quernheim and O. Eickelberg number 1 in this series: Biological role of matrix metalloproteinases: A critical balance. *Eur Respir J.* 2011;38(1):191-208. doi:10.1183/09031936.00146510.
101. Johnson JL, George SJ, Newby AC, Jackson CL. Divergent effects of matrix metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on atherosclerotic plaque stability in mouse brachiocephalic arteries. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(43):15575-15580. doi:10.1073/pnas.0506201102.
102. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562-573.
103. Special I, Fachbeitrag I, Praxismanagement I, et al. I Interview Prophylaxe – State of the Art „ Künstlicher Zahnschmelz reduziert die Überempfindlichkeit des Dentins “. *Dent J.* 2011;I.
104. Crowther J. *The ELISA Guidebook.* Human Press Inc.; 2001.
105. Cypionka H. *Grundlagen Der Mikrobiologie.* Springer Verlag; 2010:94-96.
106. Rassow J, Deutzmann R, Netzker R, Hauser. *Duale Reihe Biochemie.* 3rd ed. Georg Thieme Verlag; 2012:404-405.

107. Clewley JP. *The Polymerase Chain Reaction (PCR) for Human Viral Diagnosis*. First Prin. Crc Pr Inc; 1995.
108. Brock TD, Freeze H. *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a Non-sporulating Extreme Thermophile. *J Bacteriol*. 1969;98(1):289-297.
109. Shafique S. *Polymerase Chain Reaction*. LAP Lambert Academic Publishing; 2012.
110. Richter G. *Praktische Biochemie: Grundlagen Und Techniken*. Georg Thieme Verlag; 2003:150.
111. Polymerase Chain Reaction. 125(5). doi:10.1016/S0002-9394(98)00015-4.
112. Micheelis W, Holtfreter B, Schroeder E. Einschätzung der Parodontitislast in Deutschland. *Dtsch Zahnarztl Z*. 2008;7:464-472.
113. Jepsen, s. Kommisch, Hendrik Kebschull M. Ätiologie der Parodontitis – gibt es neue Erkenntnisse? 2018. https://www.zm-online.de/archiv/2018/01_2/zahnmedizin/aetiologie-der-parodontitis-gibt-es-neue-erkenntnisse-1/seite/alle/.
114. Page RC, Eke PI. Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *J Periodontol*. 2007;78(February 2003):1387-1399. doi:10.1902/jop.2007.060264.
115. Morelli T, Moss KL, Beck J, et al. Derivation and Validation of the Periodontal and Tooth Profile Classification System for Patient Stratification. *J Periodontol*. 2017;88(2):153-165. doi:10.1902/jop.2016.160379.
116. Wolf, Herbert F., Rateitschak, Klaus H. REM. *Band 1 Parodontologie Farbatlanten Der Zahnmedizin*. 3. Auflage. Georg Thieme Verlag; 2012.
117. Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol*. 2009;36:458-467. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01408.x.
118. Leroy R, Eaton K a., Savage A. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis - how can it be improved? *BMC Oral Health*. 2010;10. doi:10.1186/1472-6831-10-8.
119. Pei XY, He L, Ouyang XY. Proposing a Novel, Three-level Definition of Periodontitis using Probing Depth, Clinical Attachment Loss and Bleeding on Probing: Analysis of a Rural Chinese Population. *Chin J Dent Res*. 2017;20(2):89-96. doi:10.3290/j.cjdr.a38273.
120. G.E. S, H.P. L, S. O, J.D. B. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997;14:173-201.
121. Gongsakdi V, Likittanasombat K, Laohaviraphab L, Torrungruang K, Ratanachaiwong W. Association between cigarette smoking and the intraoral distribution of periodontal

- disease in Thai men over 50 years of age. *J Investig Clin Dent*. 2011;3(2):135-141. doi:10.1111/j.2041-1626.2011.00105.x.
122. Meisel P, Heins G, Carlsson LE, et al. Impact of genetic polymorphisms on the smoking-related risk of periodontal disease: the population-based study SHIP. *Tob Induc Dis*. 2003;1(3):197. doi:10.1186/1617-9625-1-3-197.
 123. Aljehani Y. Risk factors of periodontal disease: Review of the literature. *Int J Dent*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/182513.
 124. Kou Y, Inaba H KT. Inflammatory Responses of Gingival Epithelial Cells Stimulated With *Porphyromonas gingivalis* Vesicles Are Inhibited by Hop-Associated Polyphenols. *J Periodontol*. 2008;79(1):174-180. doi:10.1111/codi.12752.
 125. Kipalev AŞ, Ökte E. Consistent Intrafamilial Transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Despite Clonal Diversity. *J Periodontol*. 2008;79:307-315.
 126. Lovegrove J. Dental plaque revisited : bacteria associated with periodontal disease. *J N Z Soc Periodontol*. 2004;10(87):7-21.
 127. Huang DM, Ling JQ, Fu CH, Luo HX, Zhou XD. Colonization relationship between *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in the infected root canals with chronic apical periodontitis]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2005;14(5):531-535.
 128. Tanabe SI, Bodet C, Grenier D. Peptostreptococcus micros cell wall elicits a pro-inflammatory response in human macrophages. *J Endotoxin Res*. 2007;13(4):219-226. doi:10.1177/0968051907081869.
 129. Saito Y, Fujii R, Nakagawa KI, Kuramitsu HK, Okuda K, Ishihara K. Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23(1):1-6. doi:10.1111/j.1399-302X.2007.00380.x.
 130. Subrahmanyam M V, Sangeetha M. Gingival crevicular fluid a marker of the periodontal disease activity. *Indian J Clin Biochem*. 2003;18(1):5-7. doi:10.1007/BF02867658.
 131. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol*. 2008;35(2):106-113. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01170.x.
 132. Silva N, Abusleme L, Bravo D, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci*. 2015;23(3):329-355. doi:10.1590/1678-775720140259.
 133. Courdurie C, Le Govic Y, Bourhy P, et al. Evaluation of different serological assays for early diagnosis of leptospirosis in Martinique (French West Indies). *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(6). doi:10.1371/journal.pntd.0005678.
 134. Safi MA a. Hepatitis C: An overview of various laboratory assays with their mode of diagnostic cooperation. *Clin Lab*. 2017;63(5):855-865. doi:10.7754/Clin.Lab.2016.161113.

135. Theodorou V, Valis D, Spanakis N, et al. Comparison of the enzyme-linked immunosorbant assay III, recombinant immunoblot third generation assay, and polymerase chain reaction method in the detection of hepatitis C virus infection in Haemodialysis patients. *J Clin Lab Anal.* 2002;13(3):122-125. doi:10.1002/(sici)1098-2825(1999)13:3<122::aid-jcla6>3.3.co;2-1.
136. Nieminen MT, Vesterinen P, Tervahartiala T, et al. Practical implications of novel serum ELISA-Assay for matrix metalloproteinase-8 in acute cardiac diagnostics. *Acute Card Care.* 2015;17:46-47. doi:10.3109/17482941.2015.1115077.
137. Baeza M, Garrido M, Hernández-Ríos P, et al. Diagnostic accuracy for apical and chronic periodontitis biomarkers in gingival crevicular fluid: An exploratory study. *J Clin Periodontol.* 2016;43(1):34-45. doi:10.1111/jcpe.12479.
138. Bratcher PE, Gaggari A. Factors influencing the measurement of plasma/serum surfactant protein D levels by ELISA. *PLoS One.* 2014;9(11):1-8. doi:10.1371/journal.pone.0111466.
139. Noack B, Kipping T, Tervahartiala T, Sorsa T, Hoffmann T, Lorenz K. Association between serum and oral matrix metalloproteinase-8 levels and periodontal health status. *J Periodontol Res.* 2017;52(5):824-831. doi:10.1111/jre.12450.
140. Schicht M, Stengl C, Sel S, et al. The distribution of human surfactant protein within the oral cavity and their role during infectious disease of the gingiva. *Aanat.* 2015;199:92-97. doi:10.1016/j.aanat.2014.05.040.
141. Van De Wetering JK, Van Golde LMG, Batenburg JJ. Collectins: Players of the innate immune system. *Eur J Biochem.* 2004;271(7):1229-1249. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04040.x.
142. Salminen A, Gursoy UK, Paju S, et al. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014;41:442-450. doi:10.1111/jcpe.12234.
143. Emingil G, Han B, Özdemir G, et al. Effect of azithromycin, as an adjunct to nonsurgical periodontal treatment, on microbiological parameters and gingival crevicular fluid biomarkers in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol Res.* 2012;47:729-739. doi:10.1111/j.1600-0765.2012.01488.x.
144. Yakob M, Meurman J, Sorsa T, Söder B. *Treponema denticola* associates with increased levels of MMP-8 and MMP-9 in gingival crevicular fluid. *Oral Dis.* 2013;19:694-701. doi:10.1111/odi.12057.
145. Bräuer L, Möschter S, Beileke S, Jäger K, Garreis F, Paulsen FP. Human parotid and submandibular glands express and secrete surfactant proteins A, B, C and D. *Histochem Cell Biol.* 2009;132(3):331-338. doi:10.1007/s00418-009-0609-x.
146. Stengl C. Nachweis der Surfactant Proteine A, B, C und D im Epithel der humanen Gingiva sowie deren Quantifizierung in gesundem und pathologisch verändertem Speichel. 2014.

147. Ern C, Heym R, Rüdel I, Müller B, Hickel R, Folwaczny M. MMP-8, PGE2 and Surfactant Protein D as biomarkers of periodontitis. *Conf 2014 IADR/PER Congr.*
148. Bratcher PE, Gaggar A. Factors Influencing the Measurement of Plasma/Serum Surfactant Protein D Levels by ELISA. *PLoS One.* 2014;9(11):e111466. doi:10.1371/journal.pone.0111466.
149. Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, et al. Differences in serum SP-D levels between German and Japanese subjects are associated with SFTPD gene polymorphisms. *BMC Med Genet.* 2014;15. doi:10.1186/1471-2350-15-4.
150. Lomas D a., Silverman EK, Edwards LD, et al. Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD. *Eur Respir J.* 2009;34(1):95-102. doi:10.1183/09031936.00156508.
151. Johansson SL, Tan Q, Holst R, et al. Surfactant protein D is a candidate biomarker for subclinical tobacco smoke-induced lung damage. *AJP Lung Cell Mol Physiol.* 2014;306(9):L887-L895. doi:10.1152/ajplung.00340.2013.
152. Van Miert E, Sardella a., Bernard a. Biomarkers of early respiratory effects in smoking adolescents. *Eur Respir J.* 2011;38(6):1287-1293. doi:10.1183/09031936.00000911.
153. Sorensen GL. Genetic and environmental influences of surfactant protein D serum levels. *AJP Lung Cell Mol Physiol.* 2006;290(5):L1010-L1017. doi:10.1152/ajplung.00487.2005.
154. Kishore U, Bernal AL, Kamran MF, et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D in human health and disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2005;53(5):399-417. doi:10.1007/s00284-005-0098-7.
155. Ye S. Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):636-645. doi:10.1016/j.cardiores.2005.07.015.
156. Ye S, Eriksson P, Hamsten A, Kurkinen M, Humphries S, Henney A. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression. *J Biol Chem.* 1996;271(22):13055-13060.
157. Blankenberg S. Plasma Concentrations and Genetic Variation of Matrix Metalloproteinase 9 and Prognosis of Patients With Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2003;107(12):1579-1585. doi:10.1161/01.CIR.0000058700.41738.12.
158. Medley TL, Cole TJ, Dart AM, Gatzka CD, Kingwell B a. Matrix metalloproteinase-9 genotype influences large artery stiffness through effects on aortic gene and protein expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1479-1484. doi:10.1161/01.ATV.0000135656.49158.95.
159. Lin CC, Yang WC, Chung MY, Lee PC. Functional polymorphisms in matrix metalloproteinases-1, -3, -9 are associated with arteriovenous fistula patency in

- hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(10):1805-1814. doi:10.2215/CJN.01500210.
160. Liu D, Guo H, Li Y, Xu X, Yang K, Bai Y. Association between polymorphisms in the promoter regions of matrix metalloproteinases (MMPs) and risk of cancer metastasis: A meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(2). doi:10.1371/journal.pone.0031251.
 161. Kader a. K, Shao L, Dinney CP, et al. Matrix Metalloproteinase Polymorphisms and Bladder Cancer Risk. *Cancer Res*. 2006;66(24):11644-11648. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-1212.
 162. Xu X, Wang L, Xu C, et al. Variations in matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 genes and the risk of acute coronary syndrome and coronary artery disease in the Chinese Han population. *Coron Artery Dis*. 2013;24(4):259-265. doi:10.1097/MCA.0b013e32835ea3af.
 163. Borghese B, Chiche JD, Vernerey D, et al. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinase 12 and 13 genes are implicated in endometriosis progression. *Hum Reprod*. 2008;23(5):1207-1213. doi:10.1093/humrep/den007.
 164. Nizam N, Gümüş P, Pitkänen J, Tervahartiala T, Sorsa T, Buduneli N. Serum and Salivary Matrix Metalloproteinases, Neutrophil Elastase, Myeloperoxidase in Patients with Chronic or Aggressive Periodontitis. *Inflammation*. 2014;37(5):1771-1778. doi:10.1007/s10753-014-9907-0.
 165. Heikkinen AM, Mäntylä P, Leppilähti J, Rathnayake N, Meurman J, Sorsa T. Oral Fluid Biomarkers in Smoking Periodontitis Patients and Systemic Inflammation. *Emerg Trends Oral Heal Sci Dent*. 2015. doi:10.5772/59813.
 166. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases . PubMed Commons. *Oral Dis*. 2004;10(6):311-318.
 167. Sorsa T, Hernández M, Leppilähti J, Munjal S, Netuschil L, Mäntylä P. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis*. 2010;16(1):39-45. doi:10.1111/j.1601-0825.2009.01603.x.
 168. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med*. 2010;4(1):171-189. doi:10.2217/bmm.09.68.
 169. Miller CS, King CP, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas M V. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc*. 2006;137(3):322-329. doi:10.14219/jada.archive.2006.0181.
 170. AlRowis R, AlMoharib HS, AlMubarak A, Bhaskardoss J, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid-based biomarkers in periodontal disease - part 2. Gingival crevicular fluid. *J Int Oral Heal*. 2014;6(March):126-135.
 171. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, et al. Salivary biomarkers for detection of systemic diseases. *PLoS One*. 2013;8(4):e61356. doi:10.1371/journal.pone.0061356.
 172. Wikigenes. Matrixmetallopeptidase 8. <https://www.wikigenes.org/e/gene/e/4317.html>.

173. Godoy-Santos AL, Trevisan R, Fernandes TD, Santos MCLG Dos. Association of MMP-8 polymorphisms with tendinopathy of the primary posterior tibial tendon: a pilot study. *Clin (Sao Paulo)*. 2011;66(9):1641-1643. doi:10.1590/S1807-59322011000900023.
174. Herman MP, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation*. 2001;104(16):1899-1904. doi:10.1161/hc4101.097419.
175. Lee J, Kim HR, Min JW, et al. Lack of association between matrix metalloproteinase 8 promoter polymorphism and bronchiectasis in Koreans. *J Korean Med Sci*. 2007;22(4):667-671. doi:200708667 [pii].
176. Roderfeld M, Rath T, Schulz R, et al. Serum matrix metalloproteinases in adult CF patients: Relation to pulmonary exacerbation. *J Cyst Fibros*. 2009;8(5):338-347. doi:10.1016/j.jcf.2009.06.001.
177. Vihinen P, Koskivuo I, Syrjanen K, Tervahartiala T, Sorsa T, Pyrhonen S. Serum matrix metalloproteinase-8 is associated with ulceration and vascular invasion of malignant melanoma. *Melanoma Res*. 2008;18(4):268-273. doi:10.1097/CMR.0b013e3283090031.
178. Merdad A, Karim S, Schulten H-J, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer: MMP-9 as a potential biomarker for cancer invasion and metastasis. *Anticancer Res*. 2014;34(3):1355-1366.
179. Decock J, Hendrickx W, Vanleeuw U, et al. Plasma MMP1 and MMP8 expression in breast cancer: protective role of MMP8 against lymph node metastasis. *BMC Cancer*. 2008;8:77. doi:10.1186/1471-2407-8-77.
180. Kumar MS, Vamsi G, Sripriya R, Sehgal PK. Expression of Matrix Metalloproteinases (MMP-8 and -9) in Chronic Periodontitis Patients With and Without Diabetes Mellitus. *J Periodontol*. 2006;77:1803-1808. doi:10.1902/jop.2006.050293.
181. Lauhio a, Kontinen YT, Tschesche H, et al. Reduction of matrix metalloproteinase 8-neutrophil collagenase levels during long-term doxycycline treatment of reactive arthritis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994;38(2):400-402. doi:10.1128/AAC.38.2.400.
182. Choi D-H, Moon I-S, Choi B-K, et al. Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol Res*. 2004;39(1):20-26. doi:10.1111/j.1600-0765.2004.00696.x.
183. Zhang L, Li X, Yan H, Huang L. Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis. *Med (United States)*. 2018;97(3). doi:10.1097/MD.00000000000009642.
184. Rathnayake N, Åkerman S, Klinge B, et al. Salivary biomarkers of oral health - A cross-sectional study. *J Clin Periodontol*. 2013;40(2):140-147. doi:10.1111/jcpe.12038.

185. Ebersole JL, Nagarajan R, Akers D, Miller CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5. doi:10.3389/fcimb.2015.00062.
186. Wu YC, Ning L, Tu YK, et al. Salivary biomarker combination prediction model for the diagnosis of periodontitis in a Taiwanese population. *J Formos Med Assoc.* 2017;117(9). doi:10.1016/j.jfma.2017.10.004.
187. Äyräväinen L, Heikkinen AM, Kuuliala A, et al. Inflammatory biomarkers in saliva and serum of patients with rheumatoid arthritis with respect to periodontal status. *Ann Med.* 2018;50(4):333-344. doi:10.1080/07853890.2018.1468922.
188. Lahdentausta L, Paju S, Mäntylä P, et al. Saliva and serum biomarkers in periodontitis and coronary artery disease. *J Clin Periodontol.* 2018;45(9). doi:10.1111/jcpe.12976.
189. ELISA.
<http://www.abnova.com/support/resources.asp?switchfunctionid=%7B70196CA1-59B1-40D0-8394-19F533EB108F%7D>.

9. DANKSAGUNGEN

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. Folwaczny für die Überlassung des Themas und für die gute Betreuung während der Entstehung dieser Arbeit.

Für die intensive Betreuung und die vielen hilfreichen Tipps danke ich sehr Fr. Dr. Christina Ern.

Ganz herzlich danke ich Brigitte Hackl und Tamara Berger, die mir mit viel Geduld die Techniken des Labors gezeigt haben und stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatten.

Meiner Freundin und Laborpartnerin Isabella Kirchhoff danke ich für die vielen aufmunternden Worte.

Ich danke all den Patienten, die sich dieser Studie zur Verfügung gestellt haben, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ein ganz großer Dank gilt meiner gesamten Familie für ihre Unterstützung.



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Müller, Beate

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Untersuchung zur Korrelation zwischen der klinischen Manifestation der marginalen Parodontitis und der Expression von Matrixmetalloproteinase 8 und Surfactant Protein D im Serum

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Eching, 30.8.2020

Ort, Datum

Beate Müller

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand